

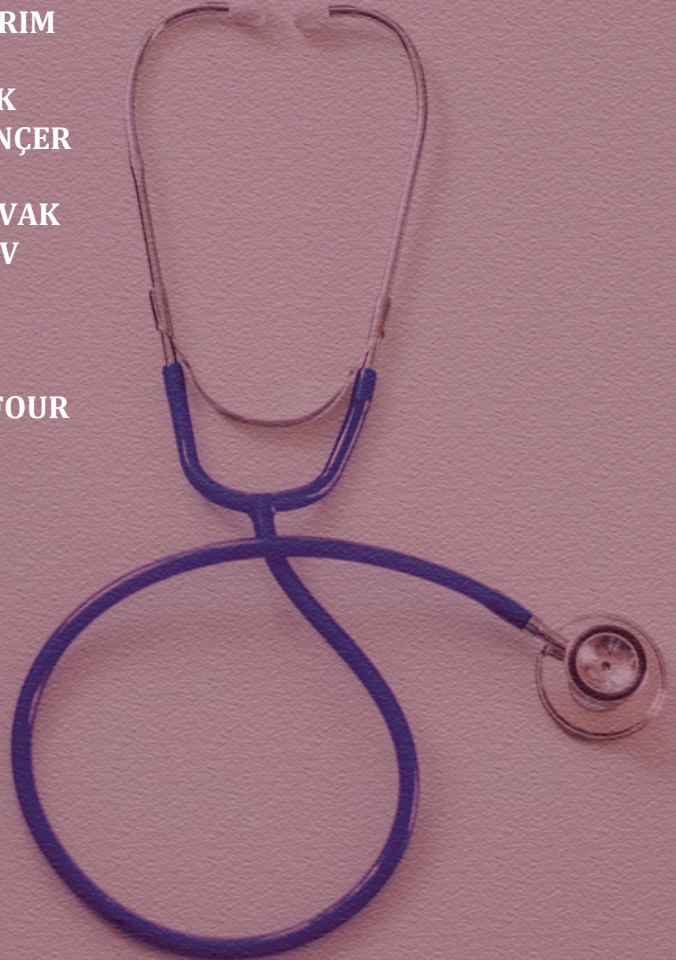
TEMEL TIP BİLİMLERİNDE GÜNCEL ÇALIŞMALAR-3

EDİTÖR

Uzm. Dr. Kübra İRDAY

YAZARLAR

Prof. Dr. Firuze KURTOĞLU
Doç. Dr. Betül APAYDIN YILDIRIM
Doç. Dr. Mustafa NAL
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KIVRAK
Dr. Öğr. Üyesi Şeref Buğra TUNÇER
Öğr. Gör. Dr. Aynur BAHAR
Öğr. Gör. Dr. Gökhan AKÇAKAVAK
Dr. Ayna SARİYEVA İSMAYILOV
Dr. Ayşe Nur PEKTAŞ
Dr. Kazım UÇKAN
Öğr. Gör. Burcu NAL
Msc. Arash ADAMNEJAD GHAFOR
Vet. Hek. Serdar VANLI



TEMEL TIP BİLİMLERİNDE GÜNCEL ÇALIŞMALAR III

EDİTÖR

Uzm. Dr. Kübra İRDAY

YAZARLAR

Prof. Dr. Fırze KURTOĞLU

Doç. Dr. Betül APAYDIN YILDIRIM

Doç. Dr. Mustafa NAL

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KIVRAK

Dr. Öğr. Üyesi Şeref Buğra TUNÇER

Öğr. Gör. Dr. Aynur BAHAR

Öğr. Gör. Dr. Gökhan AKÇAKAVAK

Dr. Ayna SARIYEVA İSMAYILOV

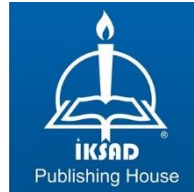
Dr. Ayşe Nur PEKTAŞ

Dr. Kazım UÇKAN

Öğr. Gör. Burcu NAL

Msc. Arash ADAMNEJAD GHAFOUR

Vet. Hek. Serdar VANLI



Copyright © 2022 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)
TURKEY 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 – 2022©

ISBN: 978-625-8213-64-5
Cover Design: İbrahim KAYA
October / 2022
Ankara / Türkiye
Size = 16x24 cm

İÇİNDEKİLER

EDİTÖRDEN / ÖNSÖZ

Uzm. Dr. Kübra İRDAY.....1

BÖLÜM 1

COVID-19 ENFEKSİYONUNUN ARKA SEGMENT BULGULARI

Dr. Ayna SARIYEVA İSMAYILOV3

BÖLÜM 2

COVID-19 PANDEMİ DÖNEMİNDE MAKİNE ZEKASININ YÜKSELİŞİ

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KIVRAK 13

BÖLÜM 3

COVID 19 VE GEBELİK

Dr. Kazım UÇKAN23

BÖLÜM 4

SERVİKS KANSER OLUŞUMUNDAKİ RİSK FAKTÖRLERİ VE BİYOBELİRTEÇLER

Msc. Arash ADAMNEJAD GHAFOUR

Dr. Öğr. Üyesi Şeref Buğra TUNÇER41

BÖLÜM 5

D-DİMER'İN BİYOBELİRTEÇ OLARAK KULLANILMASI

Doç. Dr. Betül APAYDIN YILDIRIM..... 71

BÖLÜM 6

KOLOREKTAL KANSER OLUŞUMUNDAKİ RİSK FAKTÖRLERİ VE BİYOBELİRTEÇLER

Msc. Arash ADAMNEJAD GHAFOUR

Dr. Öğr. Üyesi Şeref Buğra TUNÇER83

BÖLÜM 7

PSİKOLOJİK İLK YARDIMI ANLAMAK

Öğr. Gör.Dr. Aynur BAHAR115

BÖLÜM 8

ÜNİVERSİTE ÖĞRENCİLERİNİN SAĞLIKLI YAŞAM BİÇİMİ DAVRANIŞLARININ İNCELENMESİ

Öğr. Gör. Burcu NAL

Doç. Dr. Mustafa NAL135

BÖLÜM 9

OMURGASIZ ANTİMİKROBİYAL PEPTİDLERİ: POTANSİYEL TERAPÖTİK UYGULAMALAR

Dr. Ayşe Nur PEKTAŞ.....149

BÖLÜM 10

APOPTOZ VE MEKANİZMALARI

Vet. Hek. Serdar VANLI

Öğr. Gör. Dr. Gökhan AKÇAKAVAK

Prof. Dr. Firuze KURTOĞLU181

ÖN SÖZ

Sevgili meslektaşlarım günümüz koşullarını değiştiren corona virüs ve neden olduğu hastalıkların irdelendiği bu eserde ayrıca güncel veriler ışığında hastalık tanılarında bize yol gösteren biyobelirteçlerin doğru kullanımları da gözden geçirilmiştir.

Dünya Sağlık Örgütünün tanımına göre “sağlık; sadece hastalık ve sakatlığın olmayışı değil, bedence, ruhça ve sosyal yönden tam iyilik halidir.” Dolayısıyla psikolojik rahatsızlıkların farkına varılması ve tedavi sürecinin hızla yapılabilmesi sadece birey sağlığı değil toplum sağlığı için de önem arz etmektedir. Bu eserin sizlere birey ve toplum sağlığının korunması ve sağlıklı nesillerin yetiştirilmesi hususunda ışık tutmasını ümit ediyorum.

Kitabın yayınlanmasında emeği geçen herkese gönülden teşekkürü borç biliyorum.

Sevgi ve Saygılarımla
KÜBRA İRDAY¹

¹ Uzm. Dr. Kübra İRDAY, SBÜ Adana Şehir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Başhekim Yardımcısı

BÖLÜM 1
COVID-19 ENFEKSİYONUNUN ARKA SEGMENT
BULGULARI

Dr. Ayna SARIYEVA İSMAYILOV¹

¹ Bursa Yüksek İhtisas Eğitim Araştırma Hastanesi, Göz Hastalıkları Kliniği/ Yıldırım/
BURSA. ORCID org/0000-0002-0304-491X.,sariyevaayna@hotmail.com

GİRİŞ

SARS-Cov-2 virüsü, Coronaviridae ailesine ait tek zincirli ve zarflı bir RNA virüsüdür. Yüzeilerindeki spike proteinleri ile hücre yüzeyine bağlanır ve enfeksiyon yapar. Anjiotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) reseptörleri kullandıkları en fonksiyonel reseptörlerdendir. ACE2 ve TMPRSS2 reseptörleri insan retinasında fazlaca eksprese edilir. Son çalışmalarda SARS-Cov-2'ye ait S ve N proteini, retina damarlarındaki endotel hücrelerinde gösterilmiştir (Zhou ve ark. 2021).

Covid-19'un gözdeki hasar mekanizmaları arasında, virüse bağlı doğrudan hasar, immün aracılı doku hasarı ve pıhtılaşma kaskat aktivasyonu ve tedavide kullanılan ilaçlar sayılabilir. Gözdeki bulgular, enfeksiyonun ilk bulgusu olabileceği gibi, iyileşmeden birkaç hafta sonra da ortaya çıkabilir. Geç ortaya çıkan oküler bulguların sebebinin, tip 3 aşırı duyarlılık reaksiyonu ve immün kompleks birikimi olduğu düşünülmektedir.

Oftalmologlar, göz bulgularından yola çıkarak hem erken tanı ve tedavinin başlaması hem de hastalık yayılımının önlenmesi için alert olmalıdır.

Covid-19'a bağlı arka segment etkilenmeleri, vitreoretinal, koroidal ve vasküler yapıların etkilenmeleri olarak 3 başlık altında incelenebilir.

1.1. Covid-19'a Bağlı Vitreoretinal Etkilenmeler

1.1.1. Vitritis

Vitritis, vitreus sıvısının inflamasyonudur. Sebepleri arasında enfeksiyonlar, romatizmal hastalıklar ve maskeleyici sendromlar vardır. Covid-19'a bağlı vitritis tanısı koyabilmek için tüm bu hastalıkların ekarte edilmesi gerekir. Zago Filho ve ark. 12 günlük Covid-19 semptomları olan bir hastada bilateral vitritis ve dış retinal katmanlarda anormallikler bildirdi (Zago Filho ve ark. 2020).

1.1.2. Akut Retinal Nekroz (ARN)

Covid-19'un, kan-retina bariyerinde yüksek bir inflamatuvar yanıtı neden olarak ARN yaptığı düşünülmektedir. Gupta ve ark, Covid-19 (+) ve diffüz B hücreli lenfoma nedeniyle 2 ay önce

Rituximab tedavisi almış, 75 yaşında bir hastada ARN rapor etmişlerdir (Gupta ve ark. 2020). Soni ve ark. ise Covid-19'un immunitiyi bozup HSV aktivasyonu yaparak ARN yaptığını 2 olgu bildirmişlerdir (Soni&Narayanan,2021).

1.1.3. Purtscher-benzeri- Retinopati

Purtscher-benzeri retinopati, etyolojide travma harici sebeplerin olduğu, fundusta çoklu beyaz iskemik enfaktlar, retinal hemorajiler ve optik disk kabarıklığı ile giden bir antitedir. Bottini ve ark. ve Rahman ve ark. ciddi Covid-19 enfeksiyonu nedeniyle uzamış hospitalizasyonu olan 2 adet Purtscher- benzeri retinopati olgusu bildirmişlerdir (Bottini&Steinmetz,2021 ve Rahman&Shah,2021).

1.2. Covid-19'a Bağlı Koroidal Etkilenmeler

Covid-19'a bağlı koroidal etkilenmelerin otoimmün yanıtla bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu hasta grubunda koroidal etkilenmelere yol açabilecek sfiliz, hepatit ve tüberküloz gibi enfeksiyonların ekarte edilmesi gerekmektedir.

Tom ve ark. 25 yaşında, Covid-19 (+) kadın hastada ampiginous koroidit tespit etmişlerdir (Tom ve ark., 2021). Goyal ve ark. genç bir hastada 2. Doz Covid-19 aşısı sonrası bilateral multifokal koroidit bildirmişlerdir (Goyal ve ark., 2021). Providencia ve ark. ise Covid-19 geçiren bir bireyde serpijinöz koroiditin reaktif olduğunu yayınlamışlardır (Providencia., 2020).

1.3. Covid-19'a Bağlı Vasküler Etkilenmeler

1.3.1. Santral Retinal Ven Oklüzyonu (SRVO)

Covid-19'lu bireyler, inflamasyonda artış, endotel disfonksiyonu, trombosit aktivasyonu ve staz nedeniyle trombotik hadiselerle yatkın hale gelir. Ciddi pnömoniye bağlı hipoksi, endotelden doku faktör salınımına, bu da ekstrensik yoldan koagülasyon aktivasyonuna neden olabilir. Ancak Covid-19'u hafif geçiren bireylerde bile fibrinojen, D-dimer değerleri yükselebilir ve protrombin zamanı (PT), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) uzayabilir. Bu nedenle hastalığı hafif geçiren ve komorbiditesi olmayan hastalarda da koagülasyona eğilim vardır ve SRVO gelişebilir.

Walinjkar ve ark. 17 yaşında Covid-19 geçiren, polikistik over tanılı adölesan hastanın sağ gözünde SRVO geliştiğini bildirmişlerdir (Walinjkar ve ark., 2020). Yahalomi ve ark. 33 yaşında, komorbiditesi olmayan hastanın sol gözünde SRVO tespit etmişler ve hastayı sorguladıklarında, 3-4 haftadır var olan halsizlik, öksürük ve nefes darlığının olduğunu öğrenmişlerdir. Hastada Covid PCR'ı negatif çıkmış fakat hızlı testte Covid Ig G(+) liği tespit edilmiştir (Yahalomi ve ark., 2020).

1.3.2. Santral Retinal Arter Oklüzyonu (SRAO)

SRAO, ani ve ağrısız görme kaybı ile kendini gösteren ve ciddi görme kaybına neden olan bir hastalıktır. Covid-19'a bağlı SRAO'nun olası nedenlerinin virüs kaynaklı endotel hasarı ve vaskülit olduğu düşünülmektedir. Montesel ve ark., Covid-19 nedeniyle uzun süre hastanede ve yoğun bakımda yatıp, taburcu olduktan sonra acil servise ani görme kaybı ile gelen hastada SRAO bildirmişlerdir (Montesel ve ark.,2020). Dumitrascu ve ark. 48 yaşında, Covid-19'lu obez bir hastada apixaban kullanmasına rağmen SRAO geliştiğini raporlamışlardır (Dumitrascu ve ark., 2020). Acharya ve ark. ise 60 yaşında hipertansif, hiperlipidemik, koroner arter hastalığı ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan Covid-19 (+) hastada SRAO bildirmişlerdir (Acharya ve ark., 2020).

1.3.3. Parasantral Akut Middle Makulopati (PAMM) ve Akut Makular Nöroretinopati (AMN)

PAMM ve AMN'da esas patolojinin derin kapiller pleksusta iskemi olduğu öne sürülmüştür. Hastaların yaklaşık yarısı viral üst solunum yolu enfeksiyonu ile ilişkilendirilmiştir. Akut ağrısız görme kaybı ve renkli parasantral skotomlar en sık semptomlarıdır. Hastalarda fundus muayenesi tamamen normal olabileceği gibi foveada kırmızı-kahverengi kama şeklinde lezyonlar ve Roth spotlar görülebilir. OKT'de retinanın dış pleksiform ve iç nükleer tabakasında hiperreflektan noktalar görülebilir.

Virgo ve ark. 37 yaşında, 14 haftalık gebenin Covid-19 geçirdikten 35 gün sonra sol gözündeki ani görme kaybı sebebini

PAMM ile açıklamışlardır. (Virgo&Mohamed,2020). 53 yaşında, ağır Covid-19 enfeksiyonu geçiren başka bir hastanın, sol gözündeki negatif skotom, diskromatopsi ve görme kaybı gelişmiş ve hasta PAMM ve AMN tanısı almıştır. Çekilen OKT-Anjiografide derin kapiller pleksustan azalmış akım sinyali tespit edilmiştir (Gascon ve ark., 2020).

1.4. Covid-19 Tedavisinde Kullanılan İlaçların Arka Segmente Yan Etkileri

1.4.1. Klorokin ve Hidroksiklorokin

Klorokin ve hidroksiklorokin, malaria ve SLE tedavisinde kullanılan immunmodülatör iki ilaçtır. Antiviral etkilerinden dolayı pandeminin başlarında 7-10 günlük kurslar halinde kullanılmışlardır. Uzun kullanımlarında nadir de olsa halka şeklinde parafoveal retina pigment epitelinde (RPE) depigmentasyon, yaygın fotoreseptör kaybı ve RPE’de atrofi gelişebilir. Gelişen makülopati geri dönüşümsüzdür ve ilaç kesildikten sonra bile tahribat devam edebilir (Stokkermans&Trichonas,2020). Klorokin ve hidroksiklorokin toksisitesinin gelişimi için en önemli risk faktörü günlük alınan yüksek dozdur. Önerilen günlük doz klorokin için maksimum 2.3 mg/kg ve hidroksiklorokin için 5.0 mg/kg'dır.

İkinci risk faktörü, tedavi süresidir. Önerilen dozlarda hidroksiklorokin kullanımı 10 yıldan sonra %2’den az, 20 yıldan sonra %20’ye yakın retinal toksisite yapar (Marmor ve ark.,2016). Pandemi sürecinde, kullanılan klorokin dozu, 1. günde 1.000 mg’lık tek doz ve ardından 4-7 gün boyunca günde 500 mg idi. Hidroksiklorokin dozu ise 1. Günde 800 mg, sonrasında 4-7 gün boyunca 400 mg’dı. Kullanılan dozlar toksik dozların üzerine çıkmasına rağmen kullanım süresi çok kısadır ve 2 haftalık klorokin ve hidroksiklorokin kullanımlarında hiçbir retinal toksisite bildirilmemiştir.

1.4.2. Lopinavir ve Ritonavir

HIV tedavisinde kullanılan antiretroviral ilaçlardan olan lopinavir-ritonavir ilaç kombinasyonunun, Covid-19 viral proteazını inhibe ederek, viral yükü azalttığı düşünülmektedir. Louie ve ark HIV

tanısıyla,7 yıl yüksek doz ritonavir kullanan hastada foveada RPE'de beneklenme, midperifer retinada kemik spikül benzeri pigment değişiklikleri tanımlamışlardır (Louie& Jones, 2019). Başka bir çalışmada HIV nedeniyle uzun süre ritonavir kullanan üç hastada, her iki gözde foveal çevresinde telenjektaziler ve intraretinal kistler tespit edilmiştir (Roe ve ark., 2011). İki yazar ritonavire bağlı öküz gözü makulopatisi bildirmişlerdir (Louie& Jones, 2019 ve Pinto ve ark., 2013)

1.4.3. İnterferon (INF)

INF, antiviral ve immünomodülatör etkisinden dolayı ağır Covid-19 vakalarında potansiyel bir tedavi ajanı olarak görülmüştür. INF'ye bağlı retinopatide, tipik retinal lezyonlar, optik disk çevresinde ve arka kutupta atılmış pamuk spotlar ve retinal kanamalar tarzındadır (Hayasaka ve ark.,1995 ve Chen ve ark.,1996). Yan etkiler ilaç başladıktan sonra 1-5ay içinde ortaya çıkabilir (Miyamoto ve ark.,1993 ve Hayasaka ve ark.,1996) ve ilaç kesildikten sonra genellikle geriler.

1.4.4. Anakinra

Anakinra, İnterlökin-1 inhibitörüdür ve Covid-19'a bağlı ciddi sistemik inflamatuvar yanıtı baskılamada kullanılmaktadır. Romatizmal hastalıklar nedeniyle Anakinra kullanan hastalar 5 yıl takip edilmiş ve yüksek doz ilaç kullanan iki hastada nistagmus bildirilmiştir (Becerra ve ark., 2020).

1.4.5. Tocilizumab

Tocilizumab, İnterlökin-6 inhibitörüdür. Ciddi Covid-19 hastalığında IL-6 artışına bağlı hasarı azaltmak için kullanılmaktadır. Tada ve ark. romatoid artrit nedeniyle takip edilen hastada tocilizumab tedavisine geçildikten sonra bilateral atılmış pamuk spotlar ve retinal hemorajiler bildirmişlerdir.(Tada ve ark., 2012).

KAYNAKLAR

- Acharya, S., Diamond, M., Anwar, S., Glaser, A., & Tyagi, P. (2020). Unique case of central retinal artery occlusion secondary to COVID-19 disease. *IDCases*, 21, e00867.
- Becerra, C. M. C., Ding, Y., Kenol, B., Hendershot, A., & Meara, A. S. (2020). Ocular side effects of antirheumatic medications: a qualitative review. *BMJ open ophthalmology*, 5(1), e000331.
- Bottini, A. R., Steinmetz, S., Blinder, K. J., & Shah, G. K. (2021). Purtscher-like retinopathy in a patient with COVID-19. *Case Reports in Ophthalmological Medicine*, 2021.
- Chen LL, Onishi A, Kawano C, et al. (1996) Interferon-associated retinopathy in patients receiving systemic interferon therapy. *Folia Ophthalmol Jpn* 47:1263–1268.
- Dumitrascu, O. M., Volod, O., Bose, S., Wang, Y., Biousse, V., & Lyden, P. D. (2020). Acute ophthalmic artery occlusion in a COVID-19 patient on apixaban. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 29(8), 104982.
- Gascon P, Briantais A., Bertrand E., Ramtohum P. Comet, A., Beylerian, M., ... & Denis, D. (2020). Covid-19-associated retinopathy: a case report. *Ocular immunology and inflammation*, 28(8), 1293-1297.
- Goyal, M., Murthy, S. I., & Annum, S. (2021). Bilateral multifocal choroiditis following COVID-19 vaccination. *Ocular immunology and inflammation*, 29(4), 753-757.
- Gupta A, Dixit B, Stamoulas K, Akshikar R. Atypical bilateral acute retinal necrosis in a coronavirus disease 2019 positive immunosuppressed patient. *Eur J Ophthalmol* 2020:1120672120974941. doi: 10.1177/1120672120974941.
- Hayasaka S, Fujii M, Yamamoto Y, et al. (1995) Retinopathy and subconjunctival haemorrhage in patients with chronic viral hepatitis receiving interferon alfa. *Br J Ophthalmol* 79:150–152.
- Hayasaka, S., Okada, M., & Yamamoto, S. (1996). Retinopathy in chronic hepatitis C patients treated by systemic interferon alfa-2b. *J Rev Clin Ophthalmol (Ganka Rinsho Iho)*, 90, 1264-6.

- Louie, A. K., & Jones, H. N. (2019). Case report: retinal toxicity secondary to ritonavir. *Optometry and Vision Science*, 96(5), 376-381
- Marmor, M. F., Kellner, U., Lai, T. Y., Melles, R. B., & Mieler, W. F. (2016). Recommendations on screening for chloroquine and hydroxychloroquine retinopathy (2016 revision). *Ophthalmology*, 123(6), 1386-1394.
- Miyamoto K, Suda T, Motokura M, et al.(1993) Retinopathy in interferon- α treatment. *J Eye (Atarashii Ganka)* 10:497–500.
- Montesel, A., Bucolo, C., Mouvet, V., Moret, E., & Eandi, C. M. (2020). Case report: central retinal artery occlusion in a COVID-19 patient. *Frontiers in pharmacology*, 11, 588384.
- Pinto, R., Vila-Franca, M., Afonso, C. O., Ornelas, C., & Santos, L. (2013). Ritonavir and bull's eye maculopathy: case report. *GMS ophthalmology cases*, 3.
- Providência J, Fonseca C, Henriques F, Proença R. Serpiginous choroiditis presenting after SARS CoV 2 infection: A new immunological trigger?. *EurJ Ophthalmol* 2020:1120672120977817. doi: 10.1177/1120672120977817.
- Rahman EZ, Shah P. Purtscher-Like Retinopathy in Patient with COVID-19 and disseminated intravascular coagulation. *American Journal of Ophthalmology Case Reports*, 2021.
- Roe, R. H., Jumper, J. M., Gualino, V., Wender, J., McDonald, H. R., Johnson, R. N., ... & Cunningham, E. T. (2011). Retinal pigment epitheliopathy, macular telangiectasis, and intraretinal crystal deposits in HIV-positive patients receiving ritonavir. *Retina*, 31(3), 559-565.
- Soni, A., Narayanan, R., Tyagi, M., Belenje, A., & Basu, S. (2021). Acute Retinal Necrosis as a presenting ophthalmic manifestation in COVID 19 recovered patients. *Ocular Immunology and Inflammation*, 29(4), 722-725.
- Stokkermans T J, Trichonas G, Chloroquine and Hydroxychloroquine Toxicity, StatPearls Publishing, Treasure Island, FL, USA, 2020.

- Tada, A., Hashida, N., Tanaka, T., & Nishida, K. (2012). Anti-interleukin-6 receptor antibody therapy-induced retinopathy in a patient with rheumatoid arthritis. *Case Reports in Rheumatology*, 2012.
- Tom, E. S., McKay, K. M., & Saraf, S. S. (2021). Bilateral ampiginous choroiditis following presumed SARS-CoV-2 infection. *Case Reports in Ophthalmological Medicine*, 2021.
- Virgo, J. & Mohamed, M. (2020). Paracentral acute middle maculopathy and acute macular neuroretinopathy following SARS-CoV-2 infection. *Eye*, 34(12), 2352-2353.
- Yahalomi, T., Pikkell, J., Arnon, R., & Pessach, Y. (2020). Central retinal vein occlusion in a young healthy COVID-19 patient: a case report. *American journal of ophthalmology case reports*, 20, 100992.
- Walinjkar, J. A., Makhija, S. C., Sharma, H. R., Morekar, S. R., & Natarajan, S. (2020). Central retinal vein occlusion with COVID-19 infection as the presumptive etiology. *Indian journal of ophthalmology*, 68(11), 2572.
- Zago Filho LA, Lima LH, Melo GB, Zett C, Farah ME. Vitritis and outer retinal abnormalities in a patient with COVID 19. *Ocul Immunol Inflamm* 2020;28:1298 300.
- Zhou, L., Xu, Z., Guerra, J., Rosenberg, A. Z., Fenaroli, P., Eberhart, C. G., & Duh, E. J. (2021). Expression of the SARS-CoV-2 receptor ACE2 in human retina and diabetes—implications for retinopathy. *Investigative ophthalmology & visual science*, 62(7), 6-6.

BÖLÜM 2
COVID-19 PANDEMİ DÖNEMİNDE MAKİNE
ZEKASININ YÜKSELİŞİ

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KIVRAK¹

¹ RTEÜ Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı.
mehmet.kivrak@erdogan.edu.tr. Orcid Id: 0000-0002-2405-8552

GİRİŞ

İçinde bulunduğumuz teknoloji çağı, akıllı makinaların toplumda hızlı bir şekilde benimsenmesiyle beraber dünyaya sayısız dönüşüm getirmektedir. Bu açıdan en önemli dönüşüm hiç şüphesiz tıp alanında yapay zeka teknolojilerin kullanıldığı yenilikçi uygulamalardır. Makine öğrenimi, doğal dil işleme, büyük veri ve nesnelerin interneti (IoT) gibi uygulamalar bunlara verilebilecek başlıca örneklerdir. Günden güne artan veri ve ilerleyen teknoloji sayesinde tıbbi teşhis, halk sağlığı ve epidemiyoloji, tıbbi operasyonlar ve ilaç üretimi gibi sağlığın çeşitli alanlarında yapay zekanın işlendiği tahmine dayalı modelleme ve hesaplama araçları geliştirilmektedir (Allam ve Dhunny, 2019). Ancak günümüzde bazı tıp uzmanları ve bu alandaki paydaşlar, tıp alanındaki ilerlemenin bir parçası olarak bilgisayar teknolojilerini henüz tam olarak benimseyemedikleri için yaşamı tehdit eden durumlar da dahil olmak üzere insan temelli yorumlamaya daha çok güvenmekteler. İnsan temelli yorumlama ve kararlar bazen zaman alıcı olma eğilimindedir ve doğru olmaktan çok uzaktır. Bu nedenle, bu tür senaryoların en aza indirilmesini ve alınacak kararların geniş çapta kabul edilmelerini sağlamak için, bu teknolojilerin kullanımına rehberlik edecek çerçevelere ihtiyaç vardır. Özellikle, veri toplama, depolama, yönetim ve paylaşım konuları, sağlık camiasındaki endişenin birincil kaynağı olarak görüldüğünden, acilen ele alınması gerekmektedir. Bu açıdan ilk adım veri kapsamının sınırlandırılması, kullanılan cihazların ve ağların uyumu veya kullanım protokolleri ve standardizasyonu olarak düşünülebilir. Bu tür zorlukların üstesinden gelmek, özellikle tüm dünyanın COVID-19 pandemisinin etkilerinden zarar gördüğü şu anki gibi acil durumlarda kilit öneme sahip olacaktır (Gaille, 2019).

COVID-19'un Erken Tespiti

İlk olarak Çin'de tespit edilen ve yeni tip koronavirüsün olarak da bilinen COVID-19, 9 Ocak 2020'de Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından tüm kamuoyuna duyuruldu (WHO). Bu resmi açıklama sonrası virüs tüm dünyada yaygınlaşarak bir pandemi olarak sınıflandırıldı. Pandemi ile mücadele döneminde, özellikle Çin'de

sağlık yetkilileri daha fazla yayılmayı önlemek için 23 Ocak 2020'den itibaren Wuhan şehrinin tüm bölgesini tamamen karantina altına almaya çalıştı (Aredy ve Deng, 2020). Sonraki süreçlerde Virüs Tanımlama Laboratuvarları, virüsü başarılı bir şekilde klonladıktan sonra, gerekli tedaviler ve aşılar üzerindeki çalışmalar için verileri yetkili araştırmacıların ve laboratuvarların erişebileceği ve daha fazlasını yapabileceği açık bir veritabanında paylaştı (Nature, 2020). Tüm bu ortak çabalar, küresel büyüklükteki salgınlarla yüzleşmek için teknolojilerin etkin kullanımının mücadeleden ne kadar önemli olduğunu hepimize kanıtladı.

COVID-19'un Erken Tespitine Yönelik Önemli Çalışmalar

COVID-19'un erken tespitine yönelik BlueDot ve Metabiota gibi firmalar, koronavirüs salgını ve salgını yaşama riski taşıyan hedef ülkeleri doğru ve rekor sürede tahmin etmek için modern bilgi işlem teknolojilerini nasıl kullanabildiğine dair bazı araştırma-geliştirme çalışmaları yürüttüler. 2003 yılında SARS salgınından sonra kurulan BlueDot firması, web tabanlı bir girişim olarak faaliyetlerini sürdürmektedir ve özellikle 2009'da H1N1 influenza pandemisinin patlak vermesiyle dünya çapındaki hava yolculuğu verilerine dayanarak küresel salgına ait doğru tahminlemeler yapabilmesi sayesinde ilgi odağı haline geldi. Ayrıca Üç Batı Afrika ülkesini vuran Ebola virüsü salgınının yayılmasını tahmin etmesine izin veren risk değerlendirme modelleri geliştirdiği 2014 yılında modern bilgi işlem teknolojilerinin kullanımındaki yetkisini pekiştirdi (Allen, 2016). COVID-19 pandemisinin mevcut çıkmazında BlueDot, dünyanın yeni bir salgın yaşadığını ilk tahmin eden (resmi duyurudan 9 gün önce) ve ayrıca salgının bir sonraki hedefi olma riski yüksek olan ülkeleri doğru bir şekilde belirleyenler arasındaydı (Bowles, 2020). Bu girişimin doğru tahminler yapmadaki başarısının cevabı, yapay zeka tabanlı araçlara, makine öğrenimi ve doğal dil işleme teknolojilerine büyük ölçüde güvendiği modern, gelişmiş bilgi işlem teknolojilerine ve farklı alanlardan gelen verilerin kullanılabilirliğine olan güveninde yatmaktadır. Şirket, haber kaynakları, küresel uçak bileti verileri, nüfus yoğunluğu verileri, küresel bulaşıcı hastalık uyarısı ve iklim raporu gibi

çeşitli küresel farklı kaynaklardan gelen değerli verileri taramayı başararak erken tespite yönelik modeller ve algoritmalar tasarladı (Heaven, 2020).

Küresel hastalık veritabanlarıyla tanınan Metabiota firması, yapay zeka, makine öğrenimi, büyük veri ve doğal dil işleme (NLP) algoritmaları ile gelişmiş hesaplama ve tahmine dayalı teknolojiler kullanmaktadır. Bu teknolojiler ile bulaşıcı hastalıkların salgınları, yayılımları, müdahaleleri ve vaka şiddeti hakkında tahminlerde bulunma konusunda önde gelen girişimler arasında yer almıştır. NLP sayesinde şirket çeşitli açık kaynak veri taraması yapmakta (ulusal ve uluslararası) ve elde edilen veriler kategorilere ayrılarak ileri düzey görselleştirme araçları ile salgın süresi ya da şiddeti gibi parametreler tahmin edilebilmektedir. Şirket COVID-19 vakasında, salgının yayılımını analiz etti ve hangi ülkelerin virüsün yayılmasının bir sonraki hedefi olma riskinin yüksek olduğunu tahmin edebildi (Heaven, 2020).

Biyoinformatiğin Salgının Erken Tespitinde Önemli Rolü

Küresel anlamda pandemiler söz konusu olduğunda, toplumu korumanın ve buna bağlı olarak pandeminin sosyal doku, ekonomi ve insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerini önlemenin kesin bir yolu erken teşhis safhasından geçmektedir. Gerçek zamanlı veri toplamaya, hızlı ve kapsamlı hesaplama ve tahmine izin verecek kapasiteye sahip yeterli dijital araç ve teknolojinin bulunduğu günümüzde, erken teşhis üzerinde ciddi manada durulmalıdır. Ancak bu teknolojilerde bile, özellikle veri paylaşımındaki herhangi bir gecikme, salgının saptanmasını ve tanımlanmasını zorlaştırabileceğinden ölümcül sonuçlar doğurabilecektir (Allam ve Jones, 2019). Biyoinformatiğin salgının erken tespitinde önemli rolü kapsamında, akıllı cihazlar ve sağlık verisini ölçen giyilebilir cihazlar, sosyal medya ve mevcut sağlık veri tabanı dahil olmak üzere farklı kaynaklardan gelen verilerin kullanılabilirliği salgınların tespit periyodunun ve takibinin belirlenmesinde kullanışlı ve etkili olmuştur. Özellikle büyük veri boyutlarında yapılabilecek ileri analiz yöntemleri, kişisel genom ya da kişisel tanımlayıcı ayrıntıları içeren verilere erişim sağlanarak

yapılabilecek çalışmalar da mücadelede etkin rol oynayacaktır (Gaiile, 2019)(Allam, 2020). Covid pandemisinde, x-ray görüntülerine yönelik birçok algoritma oluşturulmuş ve Çin’de yaygın olarak kullanılmıştır (Wang ve ark, 2020)(Wang ve ark, 2021) . Sistem mantık olarak yine aynı şekilde birçok akciğer görüntüsünün sisteme öğretilmesi sonucunda yeni grafilere ön tanı elde edebilme şansı sağlamaktadır (De Moura ve ark, 2020)(De Moura ve ark, 2022).

Pandemi Sürecinde Büyük Veri’ye Yönelik Analiz Yöntemleri

İnternete bağlı olarak son yıllarda artan sayıda cihaz ile Nesnelerin İnterneti (IoT) kavramına tanık olunmaktadır (Mahalle ve ark, 2014). Bu cihazlar sayesinde ortaya çıkan büyük verinin önemi içerisinde bulunduğumuz pandemi sürecinde bir hayli artmıştır. Bu büyük veri esas olarak akıllı cihazlar, IoT, yapay zeka (AI) ve sosyal ağlar tarafından yönlendirilir (Shinde ve Olesen, 2015). Bu büyük verileri analiz etmede öne çıkan zorluklardan bazıları, eski ve yeni teknolojilerin entegrasyon sorunu, araçlar ve teknolojilerle geriye ve yukarıya doğru birlikte çalışabilirlik, ölçek ve hızdır. Buna ek olarak, verilerin birlikte çalışabilirliği, güvenliği ve gizliliği konusunda standartların bulunmaması da diğer önemli zorluklardır. Dolayısıyla büyük veri miktarı artıkça bu verileri keşfetme ve analiz etme tekniklerini, verilerin nasıl işleneceğini ve bu verilerden anlamlı kalıplar elde etmeyi başarmak önemli bir adımdır. Aşağıda büyük veriye ilişkin bazı analitik yöntemler belirtilmiştir (Shinde, 2020).

Birliktelik Kural Öğrenmesi; veri kümesi birden çok sütun veya özellik arasındaki mantıksal ilişkilerden oluştuğunda birliktelik kuralı öğrenme tekniği kullanılır. Bu teknik, bir veritabanının veya veri kümesinin çeşitli sütunları arasındaki korelasyonu araştırmak için kullanışlıdır (Gashaw ve Liu, 2017).

Sınıflama Ağaçları: bu teknik, matematiksel veri analitiği ve madencilikte istatistiksel modellemede yaygın olarak kullanılmaktadır. Devasa bir veri seti üzerinde çalıştığımızda ve yeni

gözlem veya okuma geldiğinde, bu yeni gözlemin kategorisine karar vermek için bu teknik kullanılır (Chandre ve ark, 2018).

Genetik Algoritmalar; Genetik algoritmalar temel olarak amacın bazı kriter fonksiyonlarını maksimize etmek veya minimize etmek olduğu bir optimizasyon problemine uygulanır (Ezugwu ve ark, 2019).

Makine Öğrenme; Bir makine ve öğrenme olmak üzere iki bileşen içerir. Makine, belleğe, pile ve hesaplama gücüne sahip bir bilgi işlem aygıtıdır. Öğrenme, geçmiş deneyimlerden performans elde etmek ve geliştirmektir (Bishop ve Nasrabadi, 2006).

Regresyon Analizi; belirli bir hedef kullanım senaryosu veri seti için en uygun olanı bulma yöntemidir. Bağımsız değişkenler üzerinden bağımlı değişken üzerindeki değişimi açıklayabilmektir (Shinde, 2020).

Sosyal Network Analizi; Facebook ve Twitter gibi çevrimiçi sosyal ağlardaki büyük verilerin analiz edildiği yöntemlerdir (Shinde, 2020).

SONUÇ

Bu çalışmada, başta AI, makine öğrenimi ve NLP ve büyük veri olmak üzere çeşitli teknolojilerin ve biyoinformatik alanında yürütülen araştırmaların COVID-19'un erken tespitindeki rolü ortaya konmaya çalışıldı. Özellikle sağlık sektöründe bu tür yenilikçi teknolojik çalışmaların geleceğinin umut verici olduğu belirtildi. Veri paylaşımının bu modern teknolojilerin kullanımında önemli bir husus olduğu ve bunu daha da iyi hale getirmek için, protokollerin ya da standardizasyonun teşvik edilmesi gerektiği belirtildi.

KAYNAKÇA

- A.E. Ezugwu, V. Pillay, D. Hirasen, K. Sivanarain, M. Govender. A comparative study of meta-heuristic optimization algorithms for 0–1 knapsack problem: Some initial results, *IEEE Access*. 7 (2019) 43979-44001.
- C.M. Bishop, N.M. Nasrabadi, Pattern recognition and machine learning, Springer2006.
- G.R. Shinde, A.B. Kalamkar, P.N. Mahalle, N. Dey, Data Analytics for Pandemics: A COVID-19 Case Study, CRC Press 2020.
- G.R. Shinde, H. Olesen, Interaction between users and IoT clusters: Moving towards an Internet of People, Things and Services (IoPTS), Proceedings of WWRF Meeting 34: Santa Clara, CA, USA, Apr. 2015, 2015.
- J. Bowles. How Canadian AI start-up BlueDot spotted Coronavirus before anyone else had a clue, *Diginomica*, March.10 (2020) 2020.
- J. De Moura, L.R. García, P.F.L. Vidal, M. Cruz, L.A. López, E.C. Lopez, J. Novo, M. Ortega, Deep convolutional approaches for the analysis of covid-19 using chest x-ray images from portable devices, *Ieee Access*. 8 (2020) 195594-195607.
- J. De Moura, J. Novo, M. Ortega, Fully automatic deep convolutional approaches for the analysis of Covid-19 using chest X-ray images, *Applied Soft Computing*. 115 (2022) 108190.
- K. Allen. How a Toronto Company Used Big Data to Predict the Spread of Zika, 2016.
- L. Wang, Z.Q. Lin, A. Wong, Covid-net: A tailored deep convolutional neural network design for detection of covid-19 cases from chest x-ray images *Scientific Reports*. 10(1) (2020) 1-12.
- M.J.M. Gaille. Health Care, Philosophy, Patient's lived experience, Springer, 2019, pp. 339-342.
- Nature, Coronavirus latest: Australian Lab First to Grow Virus Outside China., (2020).
- P.N. Mahalle, N.R. Prasad, R. Prasad, Threshold cryptography-based group authentication (TCGA) scheme for the Internet of Things

- (IoT), 2014 4th International Conference on Wireless Communications, Vehicular Technology, Information Theory and Aerospace & Electronic Systems (VITAE), IEEE, 2014, pp. 1-5.
- P.R. Chandre, P.N. Mahalle, G.R. Shinde, Machine learning based novel approach for intrusion detection and prevention system: A tool based verification, 2018 IEEE Global Conference on Wireless Computing and Networking (GCWCN), IEEE, 2018, pp. 135-140.
- S. Li, J. Areddy, C. Deng. China locks down city at center of coronavirus outbreak, *The Wall Street Journal*. (2020).
- W.D.Heaven. AI could help with the next pandemic—but not with this one, *MIT Technology Review*. (2020).
- WHO Coronavirus (COVID-19), Dashboard.
- Y. Gashaw, F. Liu, Performance evaluation of frequent pattern mining algorithms using web log data for web usage mining, 2017 10th International Congress on Image and Signal Processing, BioMedical Engineering and Informatics (CISP-BMEI), IEEE, 2017, pp. 1-5.
- Z. Allam, D.S. Jones. The potential of blockchain within air rights development as a prevention measure against urban sprawl, *Urban Science*. 3(1) (2019) 38.
- Z. Allam, On culture, technology and global cities, *Cities and the Digital Revolution*, Palgrave Pivot, Cham.Springer2020, pp. 107-124.
- Z. Allam, Z.A. Dhunny. On big data, artificial intelligence and smart cities, *Cities*.89 (2019) 80-91.
- Z. Wang, Y. Xiao, Y. Li, J. Zhang, F. Lu, M. Hou, X. Liu, Automatically discriminating and localizing COVID-19 from community-acquired pneumonia on chest X-rays, *Pattern recognition*.110 (2021) 107613.

BÖLÜM 3

COVID 19 VE GEBELİK

Dr. Kazım UÇKAN¹

¹ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum, Van, Türkiye.
druckan65@hotmail.com . ORCHID ID 0000-0002-5576-6789

1. KORONAVİRÜSLERİN, GENEL ÖZELLİKLERİ VE SINIFLANDIRILMASI

Çin de 2019 Aralık ta ilk defa görülmeye başlanan ve Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüs-2 (SARS-CoV-2) olarak isimlendirilen yeni tip Koronavirüs (COV) hızlı bir şekilde tüm ülkelerde görülmeye başlanmıştır. 2020 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından küresel salgın şeklinde tanımlanmış olup Türkiye’de de ilk SARS-CoV-2 vakası 11 Mart 2020’de açıklanmıştır. Bu virüs nefes darlığı, ateş, öksürük semptomları ile belirti vermekte olup, daha çok solunum yolları yada yakın temas ile bulaş sağlamaktadır. SARS-CoV-2 genel olarak tüm yaşlarda görülmektedir fakat ek hastalığı olan yaşlı bireyler daha fazla etkilenmektedir (Ovalı,2020;Wan S,2020). Koronavirüsler sadece Üst solunum yolu enfeksiyonlarına yol açmakla kalmaz aynı zamanda ciddi alt solunum yolu enfeksiyonlarına ve Akut Respiratuvar Distres Sendromu gibi ciddi hastalıkları oluşturabilen geniş bir virüs ailesidir(Li G,2020). Koronavirüsler pozitif polariteli,125 nm çapında ve 30 kb genom boyutunda olan tek sarmallı RNA virüsleri olup yüzeylerinde çubuksu uzantıların olduğu yapılara sahiptirler (Zhou Y,2019). 2020 Mart ayında Uluslararası Virüs Taksonomisi raporunda da belirtildiği üzere Nidovirales takımındaki Coronaviridae ailesinde Alfa,Beta ,Gamma ve Delta olmak üzere dört alt grubu mevcuttur(Nile SH,2020). İnsanlarda yaygın 4 koronavirüs tipi tanımlanmış olup bunlardan HCoVNL63 ve HCoV-229 Alfa cinsine, HCoV-OC43 ve HCoV-HKU1 ise Beta cinsine aittir.İnsanlarda bulunan bu dört tip(HCoVNL63, HCoV-229, HCoV-OC43 , HCoV-HKU1) vücutta meydana gelen soğuk algınlığı olgularının yaklaşık olarak % 30 undan sorumludurlar(Liu DX,2020).

Membran proteini (M), Nükleokapsid proteini(N), Spike proteini (S) ve Zarf proteini (E) olmak üzere 4 yapısal proteine sahiptirler.Bunlardan Hemagglütinin Esteraz (HE) proteinleri yalnızca Beta tipinde bulunmaktayken, E ve N proteini tüm koronavirüs tiplerinde vardı. Spike proteini virüsten uzantı olarak çıkan ve konak reseptör ile bağlantıyı sağlayan yapıdır.S proteini S1 ve S2 alt gruplarına ayrılmakta olup S1 reseptör ile bağlantı kurmaktan sorumlu iken ,S2 ise füzyon işlevinden sorumludur. Spike proteini (S) reseptör olarak

Anjiyotensin converting enzim 2 (ACE2) ile iletişim halinde bulunmaktadır.Hücreye girişte, Transmembran serin proteinaz 2 (TMPRSS2) yapısında önemli olduğu bilinmektedir (Dhamad AE,2020). ACE-2 reseptörleri akciğer, endotel, böbrek, kalp, beyin ve bağırsak olmak üzere bir çok dokuda olduğundan koronovirüs enfeksiyonu durumunda solunum yolu dışında, merkezi sinir sistemi, dolaşım, ürogenital ve sindirim sistemi gibi bir çok organ ve yapı üzerinde aynı anda etki edebileceği bilinmelidir(Zhang Y,2020).

2. KORONAVİRÜS BULAŞ YOLLARI:

COVID-19 hastalığında temel bulaş yolları yakın temas ve damlacık yolları olarak belirtilmiş olup özellikle hastalığı bulunan kişilerin hapşırma,öksürme ve konuşması sırasında ortalığa saçılan damlacık miktarının önemli rolü oynadığı bilinmektedir.Virüsün el uzvuna bulaştıktan sonra aynı el ile burun,ağız veya göze temas edilmesi önemli olan bir diğer bulaş yoludur. Bu yüzden ortamın havalandırması, maske ve dezenfektan kullanılması virüsün yayılmasını engelleyebilir(McIntosh K,2020 ; Harrison AG,2020).

Herhangi bir belirti vermeyen fakat virüse sahip olan kişilerde hastalığı bulaştırma kapasitesine sahiptirler. Damlacık ve temas yolu dışında semen,idrardışkı ve tükürükte de virüs RNA yapısı tespit edilmiştir. Koronavirüsler dış ortamda ortamın nemine,sıcaklığına ve yüzey yapısına bağlı olarak genel olarak dayanıklı olmayan ve yaşam süresi kısa olan virüslerdir.Bu virüsler metal yada plastik yapılar üzerinde yaklaşık olarak 72 saate kadar canlılık ve bulaştırıcılık özelliklerini koruyabilmektedirler (Hammett E,2020).

Hastalık semptomu başlamadan önce hastalığı olan kişiler 1 -3 gün öncesinde itibaren bulaştırıcılık özelliğine sahiptirler ve belirtiler kaybolduktan sonra bulaştırıcılık ihtimali ortadan kalkar (Hammett E,2020).

3. TANI, VERTİKAL GEÇİŞ VE PLASENTAL YANIT:

İnsan plasentası anne ve fetus arasında önemli bir aracı yol oynamak ile beraber başta Naturel Killer(NK) hücreleri olmak üzere CD4 T hücreleri ve makrofajları içeren önemli bir yapıdır(Wong YP

,2021). Sars-CoV-2 virüsünün vertikal bulaş denilen annedeki enfeksiyonun bebeğe bulaşması olayı nadir olmak ile beraber bazı çalışmalarda bu bulaş şekli gösterilmiştir(Alzamora MC,2020;Patanè L ,2020). Covid-19 pozitif annelerden doğan fetus plasentaları üzerinde yapılan araştırmalarda bir çok patolojik bulgu saptanmasına rağmen en sık görülen plasental patolojik bulgu olarak fetal ve maternal vasküler malperfüzyon (FVM) rapor edilmiştir(Mine-Aizawa S ,2020). Wong ve ark tarafından bir çalışmada 3. Trimester plasentaları analiz edilmiş olup Covid 19 ile enfekte annelerden doğan bebeklerin plasentalarında en sık bulgu olarak fetal ve maternal vasküler malperfüzyon (FVM) rapor edilmiştir (Wong YP ,2021).

Shanes ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 15 plasenta incelenmiş olup bunlardan 12 sinde plasental FVM bulgusuna rastlanılmıştır(Shanes ED,2020). Anneden fetusa dikey geçiş ile çalışmalar arasında bazı çelişkiler görülmekle beraber bu geçiş şeklini engellemek için kordonun geç klemplenmesi,bebeğin emzirilmemesi ,sadece mama takviyesi yapılması,anne ve bebek temasının engellenmesi veya direk olarak hastayı hemen sezaryen ile doğuma almak gibi tedbir amaçlı uygulamalar önerilmemektedir(Walker KF,2020 ; Sánchez-Luna M 2021).

COVID 19 tanısı için Dünya genelinde kabul edilen, en etkin tanı yöntemi olarak kullanılan ve nazofaringeal alandan sürüntü örneği alınarak elde edilen kantitatif revers transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) yöntemi ülkemizde de kullanılan tanı yöntemlerinin başında gelmektedir. T.C.Sağlık Bakanlığı tarafından Olası COVID-19 Vaka Sorgulama Klavuzu adı altında hastalığa tanısız yaklaşım algoritması hazırlanmıştır.Bu kılavuza göre test sonucu negatif qRT-PCR gelmiş fakat klinik şüphe devam ediyorsa testin tekrarı yapılması düşünülmelidir .Virüs solunum yollarının daha aşağı kısımlarına lokalize olabildiği için örnek alınırken orofarengal sürüntü yerine nazofarengal sürüntü yöntemi tercih sebebi olmalıdır. İki kez negatif qRT-PCR sonucu elde edilmesi durumu COVID-19 tanısını dışlamak için yol göstericidir(T.C Sağlık Bakanlığı,2020).

Bir diğer tanısız yöntem olarak ise akciğere yönelik yapılan bilgisayarlı tomografi uygulamasıdır(Akciğer CT).Bu yöntem ile

akciğerlerde tutulumun daha çok alt kısımlarda ve bilateral olduğu tespit edilmiştir.Ayrıca en spesifik bulguların ise buzlu cam opasitelerinin yoğunluğunda ve sayısında artışın olduğu rapor edilmiştir.COVID -19 hastalığına yakalandıktan sonraki ilk 10 gün akciğer tutulumu için en riskli günler iken,konsolidasyon tablosu 14 gün içinde ortaya çıkmaktadır(Ai T ,2020 ; Pan, F,2020). Hastalarda alınan kan örneklerinden elde edilen veriler COVID-19 hastalığında tek başına tanı koydurucu olmamasına rağmen hastalığın progresyonunu ve şiddetini anlayabilmek için önemli yol göstericilerdir.Bu hastalarda başta lenfopeni olmak üzere lökopeni veya lökositozda görülebilir.Karaciğer tutulmasına sekonder olarak , laktat dehidrogenaz (LDH),aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) seviyelerinde artış görülebilir.İnflamatuvar belirteçlerden olan ESR ve CRP düzeylerinin hastalığın ilk yedi gününde arttığı belirtilmiştir(Bai Y,2020 ; Roumen RM,1992).

Ferritin,LDH,D-Dimer,IL-6 gibi inflamatuvar parametrelerde artışların ve lenfopeninin kötü prognoz ile birlikte olduğu tespit edilmiştir(Luo X ,2020). Gebelerde radyolojik görüntüleme yöntemleri kullanılması gerektiği durumlarda içerdikleri radyasyon dozlarının fetusa zarar verme ihtimali göz önünde bulundurularak dikkatli olunmalıdır(Huang C,2020).Yüksek radyasyon dozlarına maruziyet durumunda fetusta IUGR (İntrauterin gelişim geriliği),mikrosefali veya mental retardasyon gibi durumlar görülebilmektedir(Patel SJ ,2007; Miller R.W.J.T 1999). Yapılan çalışmalara göre akciğer grafisinin ve akciğer CT'nin bebeğe yansıyan radyasyon doz oranının düşük olmasına rağmen,eğer bu işlemler yapılacaksa işlem öncesi gebe hastalardan aydınlatılmış onam formu alınması ve karın bölgesini koruyucu bir bariyer ile korunması önerilmektedir (Committee Opinion ,2017 ; Moro F,2020).

4. COVID-19 GEBE YÖNETİMİ VE TEDAVİ:

Gebelik döneminde görülen yeni tip Sars-Cov-2 enfeksiyonundan korunmak için fiziksel mesafeyi korumak, maske takmak,aşı yaptırmak ve insanlarla yakın temasın olabildiğince kısıtlanması gibi tedbirlerin alınması önerilmektedir(Juan J,2020).

Gebelerin hastaneye yatış planların yapılırken hastalığın şiddetine ve komplike olup olmamasına göre karar verilmektedir.Gebede şiddetli seyir söz konusuysa hastaneye yatış yapılarak tedavi başlanmalıdır.Şayet hafif seyir varsa ve komplike bir durum yoksa tedavisiz izlem yapılabilir.Gebelik dönemindeki yönetim için Sağlık Bakanlığı'nın yayınladığı algoritmadan faydalanılmalıdır(T.C Sağlık Bakanlığı ,2020). COVID 19 enfeksiyonuna sahip gebelerin tedavi yönetiminde hastanın bireyselleştirilmesi ve hastaya multidisipliner yaklaşım gerekmektedir.Hastanın durumuna bakılarak gereklilik varsa ampirik antibiyotik tedavisi, oksijen desteği, Düşük molekül ağırlıklı heparin(DMAH),kortikosteroid ve antiviral tedavi planlanabilir.Fetal takip açısından ultrasonografi yardımıyla amniyon mayi,biyofizik profil ve fetal kalp atımı bakılmalı ve NST aracılığıyla kontraksiyon takibi yapılmalıdır(Maternal Fetal Medicine ,2020).

COVID-19 enfeksiyonu tromboemboli riskinde artış meydana getirdiği belirtilmiştir.Gebelik döneminde hiperkoagulabiliteye eğilim artmakla beraber şayet kontrendikasyon yoksa hastaneye yatırılan gebelere uygun dozda düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) ile tromboemboli prolaksisi yapılması önerilmektedir. Yatan hastalara 5000 IU dozunda unfraksiyone heparin yada DMAH 12 saat arayla uygulanabilir.Hastalar hastaneden tedavi sonrası ayrıldıktan sonrada 7-14 gün boyunca DMAH tedavisine devam edilir (Uptodate ,2019). Akciğer gelişimi için kullanılan Betametazon tedavisinin dozu ve planlanması COVID-19 olan ve olmayan gebeler için farklılık göstermez.Gebeliğin 24. Haftası ile 33 hafta 6 gün arasında olup 7 gün içinde doğum ihtimali yüksek olan gebelere betametazon önerilmekteyken, > 34. haftada olanlara önerilmez(ACOG ,2020).

Tokolitik tedavi ihtiyacı varsa nifedipin tercih sebebi olmak ile beraber indometazin kullanımının ACE-2 reseptör etkileşimine neden olabileme ihtimali olduğundan dolayı önerilmemektedir.Ayrıca tokolitik tedavide MgSO4 tatbikinin solunumu baskılayıcı etkileri yüzünden kullanımını önerilmemektedir.Toplumda oksijen saturasyonunun >90 olması yeterli görülürken gebelerde bu değerın >95 olması istenmektedir.Bu değerın altında kalması halinde kan gazı alınmalı ve gerekli tedaviler planlanmalıdır.Fetusta hipoksi oluşmasını engellemek

için kan gazında PaO₂>70 olması gerekmektedir.Gebe hastalarda hipoksi derecesine göre öncelikli olarak oksijen inhalasyon tedavisi başlanmalı ve durumun ciddiyetine bakılarak mekanik ventilasyona yada ekstrakorporal membran oksijenasyonuna (ECMO) geçilebilir.Bu hastalar takip edilirken arteryal kan gazı, karaciğer fonksiyon testleri, böbrek fonksiyon testleri ve kardiyak enzim takibi yapılmalıdır(Uptodate ,2019). SARS-CoV-2 enfeksiyonu için şuan itibariyle halen etkinliği kesin olarak kanıtlanmış bir antiviral tedavi yoktur.Antiviral tedaviler içinde ise lopinavir-ritonavir kombinasyonunun gebelerde kullanımı diğer antivirallere göre nispeten daha güvenli olarak bilinmektedir.Favipravir ise lohusalık döneminde,emziren annelerde ve gebelerde önerilmemektedir(Abdollahpour S,2020). SARS –Cov-2 enfeksiyonu olan gebelerde doğum zamanlaması yapılırken genel sağlık durumu,intrauterin fetal durum ve eşlik eden ek hastalık durumunun olup olmadığına bakılarak planlama yapılmalıdır. Doğum sürecinde Kadın doğum uzmanının yanı sıra enfeksiyon hastalıkları,anestezi ve yeni doğan uzman hekimlerinde bilgilendirilmesi önerilmektedir.Dünya Sağlık Örgütüne (DSÖ) göre normal vajinal doğum yada sezaryen doğum için maternal ve fetal duruma bakılarak karar verilmelidir. COVID-19 pozitif olunması direk sezaryen olmasına gerekçe olarak gösterilmemelidir(WHO,2022).

Yapılan bazı çalışmalarda sezaryenle doğumu olan gebelerde normal vajinal doğum yapanlara nispeten oksijene ihtiyaç duyma, obez olma, akciğer röntgeninde anormal bulgu saptanması gibi durumların daha sık görüldüğü ve sezaryen ile doğumun mevcut kliniği daha da kötüleştirebileceği bildirilmiştir(Martínez-Perez,2020).

5. COVID 19'UN GEBELİK ÜZERİNE ETKİSİ:

Gebelik döneminde bağışıklık sistemi fetusa karşı tepki koymamak ve ortam adaptasyonu sağlamak için dengeli bir şekilde değişiklik göstermektedir.İlk trimester implantasyon dönemi olup proinflatuar durum hakimdir.İkinci trimesterde fetal büyümeye katkı vermek için anti-inflatuar dönem etkilidir ve 3. trimesterde tekrar proinflatuar döneme geçiş yapılır.Gebelik döneminde T helper-1

(Th1) proinflamatuvar iken T helper-2'ler (Th2) anti-inflamatuvar özelliğe sahiptirler ve bu dönemde Th2 aktivitesi artarken Th1 aktivitesi azalmaktadır. Gebelik döneminde meydana gelen bu immünolojik değişikliklerden dolayı enfeksiyonlara yatkınlık artmasına rağmen artmış olan anti-inflamatuvar duruma sekonder olarak COVID-19 bulgularının daha hafif seyretmesine neden olabilmektedir. Gebelik döneminde solunum sisteminde artmış olan progesteron ve östrojen hormonlarından dolayı ekspansiyon kapasitesinde azalma ve akciğerlerde ve göğüs çapında genişleme görülür. Fetusun büyümesi ile birlikte uterus basısından dolayı diyafragma yukarı kalkar. Gebelik döneminde meydana gelen bu fizyolojik durumlar ise hipoksiye daha az uyum gösterilmesine ve enfeksiyonlara duyarlı bir durumun oluşmasına katkı sağlar (Mor, G, 2017).

COVID-19 maruziyeti sonrası oluşan enfeksiyon tüm yaş gruplarında etkili olduğu gibi gebelerde de görülebilmektedir. Güncel durumda bilinenlere bakıldığında bu hastalığın 1. trimesterde gebelik üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalarda net bir sonuca varılamamakla birlikte hafif düzeyde geçirilen enfeksiyonunun fetomaternal etkileri belirsizdir (Mullins, E, 2020). Gebelerde saptanan en sık bulgular dispne, miyalji, öksürük, baş ağrısı, ateş ve boğaz ağrısıdır (Zambrano LD, 2020). Yapılan çalışmalarda gebe hastaların %73-95 arası asemptomatik olduğu ve bunların %59'unun asemptomatik seyrinin devam ettiği bildirilmiştir (Allotey J, 2020; Yanes-Lane M 2020).

Gebelik döneminde hastalığın şiddetini ve ölüm riskini arttıran durumların başında obezite, 35 yaş ve üstü olmak, aşı yaptırmamak, hipertansiyon, diyabet yada kronik hastalığı bulunmak gibi ek durumlar önem arz etmektedir (Kasehagen L, 2021 ; Karimi L 2021). Joshi ve arkadaşları tarafından yapılan geniş çaplı bir çalışmada gebelik yaşı ≥ 20 hafta olan 173 COVID-19 pozitif gebe bu çalışmaya dahil edildi ve plasental histopatolojik raporlaması yapıldı. İncelenen toplam 179 plasentanın %49.16'sında plasental anormallikler fark edildi. Patoloji sonuçlarına göre ilk sırada Maternal vasküler malperfüzyon (%27.93) olmak üzere, villöz fibrin birikintileri (%22.90), fetal vaskülopati (%16.75) ve akut inflamasyon (%6.70) izlendi. Aynı çalışmada

anormal plasenta morfolojisine sahip olup doğum yapan gebelerin yenidoğan bebekleri ile ilgili sonuçları değerlendirilmiş olup bu bulgulara göre ölüm oranı, İntrauterin gelişim geriliği ve preeklampsinin arttığı, 1. dk ve 5. dk Apgar skorlarının ise önemli ölçüde daha düşük olduğu tespit edilmiştir(Joshi B, 2019).Bu çalışmanın aksine literatürdeki başka bir çalışmada ise Rebutini ve ark.COVID-19 enfeksiyonu olan gebelerde görülen plasental değişikliklerin gebelik sonuçları üzerinde önemli bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir (Rebutini PZ ,2021).

UKOSS çalışmasında, COVID-19'lu kadınlar için preterm doğum olasılığının yüksek olduğu belirtilmiş olup asemptomatik COVID-19'lu kadınların %9'unun ve semptomatik COVID-19'lu kadınların %19'unun 37.gebelik haftasından önce doğumlarını gerçekleştirdikleri belirtilmiştir.Ayrıca aynı çalışmada sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında da COVID-19'lu gebelerde preterm doğum ihtimalinin daha çok arttığı belirtilmiştir(Wei SQ,2021 ; Cruz-Lemini M,2021 ; Gurol-Urganci I,2021).

Yakın tarihli bir raporda, elektron mikroskobu yardımıyla plasental villuslarda SARS-CoV-2 viryonlarını tanımlamıştır. Literatürdeki bir diğer çalışmada ise virüsün plasentadaki viral yüklerinin normalden 2 kat daha fazla olmasıyla transplasental yolla bulaşabileceği bildirilmiştir ve aynı çalışmada plasentadaki bu yüksek viral yükün, virüsün plasenta hasarı ile sonuçlanabilecek plasenta inflamatuvar yanıtı ortaya çıkarma olasılığını yükseltebileceği belirtilmiştir(Algarroba GN,2020).SARS-CoV-2 enfeksiyonunun patofizyolojisi tam olarak anlaşılmasa da, ciddi bir sistemik inflamatuvar yanıtı yol açabileceği ve yaygın mikrotrombüs ile hiper pıhtılaşma durumuna neden olabileceğine dair yeni kanıtlar ortaya çıkmaktadır(Vivanti AJ ,2020 ; Connors JM 2020). Mullins E ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada COVID -19'lu gebelerde preterm doğum oranı yüksek olarak rapor edilmiş olup intrauterin gelişim geriliği ve preeklampsi gelişmesi açısından farklılık izlenmemiştir.Ayrıca aynı çalışmada enfeksiyondan sonraki ilk 2 hafta içinde doğum olması durumunda ölü doğum ihtimalinin enfeksiyon üzerinden 2 hafta geçmesi sonrası doğum olması durumuna göre daha

fazla risk teşkil ettiği söylenmiştir(Mullins E ,2022). Shu Qin Wei ve arkadaşlarının yaptıkları geniş çaplı bir çalışmada da gebelerde ki COVID-19 hastalığının preterm doğum,preeklampsi, ve ölü doğum ile ilişkili olduğunu bulunmuştur.Ayrıca semptomatik hastalardaki preterm doğum ve sezaryen ile doğum oranı asemptomatik olanlar karşılaştırıldığında risk daha fazla artmıştır. Şiddetli COVID-19 olanlarda ise hafif COVID-19 olanlara göre gestasyonel diyabet,preeklampsi, düşük doğum ağırlığı ve erken doğum ihtimalinin daha da arttığı bildirilmiştir (Shu Qin Wei , MD ,2021).

COVID-19 pandemisinin gebe kadınların bireysel ruh sağlığı üzerinde etkileri araştırılmış ve önemli olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir. Türkiye'de konuyla ilgili yapılan bir çalışmada pandeminin gebelerde endişe, sıkıntı ve korku yaratma konusunda büyük bir potansiyele sahip olduğu bulunmuştur. Başka bir çalışma ise Atmuri ve arkadaşları tarafından Avustralya'da yapılmış ve Pandeminin hamile kadınların hayatlarını etkilediği ve psikososyal sağlıklarına zarar verme potansiyeline sahip olduğunu bulmuşlardır(Mizrak B,2021; Atmuri K,2022).

Sonuç olarak SARS-CoV-2 pandemisi ülkemizde olduğu gibi tüm dünyada da etkisi azalma eğiliminde olsa da hala devam etmektedir. Günümüzde birçok varyantı tespit edilen bu viral hastalık için hala tam etkili olabilecek bir antiviral tedavi bulunamamıştır.Hastalığa yakalanan kişiler için erken dönemde tedaviye başlamak hem hastalığın şiddetlenmesini hem de mortalite oranını azaltmaktadır. Gebelik döneminde genel olarak enfeksiyonlara karşı hassasiyet durumu bulunmaktave bu durum SARSCoV-2 için de geçerliliğini korumaktadır.Gebelik döneminde literatüre bakıldığında birçok farklı veri bulunmakta ve hala ortak bir görüşe varılamadığı görülmektedir. Bununla birlikte preeklampsi,preterm doğum, iugr ve ölü doğum gibi risklerin gebelik döneminde arttığı ile ilgili çalışma sayısının bir hayli fazla olduğu görülmektedir.Özellikle maternal immün sistem düşünüldüğünde COVID-19 hastalığından korunmak ve hastalığa yakalanmamak gebeler için daha avantajlı bir durum olarak görülmektedir.

KAYNAKÇA

- Abdollahpour, Sedigheh, and Talat Khadivzadeh. "Improving the quality of care in pregnancy and childbirth with coronavirus (COVID-19): a systematic review." *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* (2020): 1-9.
- Ai, T., et al., Correlation of chest CT and RT-PCR testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China: a report of 1014 cases. 2020. 296(2): p. E32-E40.
- Algarroba GN, Rekawek P., Vahanian SA Visualization of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 invading the human placenta using electron microscopy. *I am J Obstet Gynecol.* 2020; 223 :275–278
- Allotey J, Stallings E, Bonet M, Yap M, Chatterjee S, Kew T, et al. Clinical manifestations, risk factors, and maternal and perinatal outcomes of coronavirus disease 2019 in pregnancy: living systematic review and metaanalysis. *Bmj.* 2020;370:m3320.
- Alzamora MC, Paredes T, Caceres D, Webb CM, Valdez LM, La Rosa M. Severe COVID-19 during Pregnancy and Possible Vertical Transmission. *Am J Perinatol.* 2020;37(8):861-5
- Atmuri K., Sarkar M., Obudu E., Kumar A. Perspectives of pregnant women during the COVID-19 pandemic: a qualitative study. *Women Birth.* 2022;35(3):280–288.
- Bai Y, Yao L, Wei T, et al. Presumed asymptomatic carrier transmission of COVID-19. *Jama.* 2020;323(14):1406-1407. 53
- Bharti Joshi 1, Anadeep Chandi 2, Radhika Srinivasan 3, Shiv Sajan Saini 4, G R V Prasad 5, G D Puri 6, Ashish Bhalla 7, Vanita Suri 8, Rashmi Bagga 9 The placental pathology in Coronavirus disease 2019 infected mothers and its impact on pregnancy outcome. 2022 Jul 19;127:1-7.
- Committee Opinion No. 723: Guidelines for Diagnostic Imaging During Pregnancy and Lactation. *Obstet Gynecol.* 2017. 130(4): p. e210-e216.
- Connors JM, Levy JH COVID-19 and its effects on thrombosis and anticoagulation. *Blood.* 2020; 135 :2033–2040.

- Cruz-Lemini M, Ferriols Perez E, de la Cruz Conty ML, Caño Aguilar A, Encinas Pardilla MB, Prats Rodríguez P, et al. Obstetric Outcomes of SARS-CoV-2 Infection in Asymptomatic Pregnant Women. *Viruses*. 2021 Jan;13(1). 57
- Dhamad AE, Rhida MAA. COVID-19: molecular and serological detection methods. *PeerJ*. 2020;8:e10180.
- GuroI-Urganci I, Jardine JE, Carroll F, Draycott T, Dunn G, Fremeaux A, et al. Maternal and perinatal outcomes of pregnant women with SARS-CoV-2 infection at the time of birth in England: national cohort study. *Am J Obstet Gynecol*. 2021 Nov;225(5):522.e1-522.e11
- Hammett, E., How long does Coronavirus survive on different surfaces? *BDJ Team*, 2020. 7(5): p. 14-15.
- Harrison, A.G., T. Lin, and P. Wang, Mechanisms of SARS-CoV-2 transmission and pathogenesis. *Trends in immunology*, 2020. 41(12): p. 1100-1115
- <https://www.acog.org/clinical-information/physician-faqs/covid-19-faqs-for-ob-gyns> obstetrics (Accessed on April 14, 2020).
- Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497-506
- Juan J, Gil MM, Rong Z, Zhang Y, Yang H, Poon LC. Effect of coronavirus disease 2019 (COVID-19) on maternal, perinatal and neonatal outcome: systematic review. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2020;56(1):15-27
- Karimi L, Makvandi S, Vahedian-Azimi A, Sathyapalan T, Sahebkar A. Effect of COVID-19 on Mortality of Pregnant and Postpartum Women: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Pregnancy*. 2021;2021:8870129
- Kasehagen L, Byers P, Taylor K, Kittle T, Roberts C, Collier C, et al. COVID19-Associated Deaths After Sars-CoV-2 Infection During Pregnancy - Mississippi, March 1, 2020-October 6, 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2021;70(47):1646-8.

- Li G, Fan Y, Lai Y, Han T, Li Z, Zhou P, et al. Coronavirus infections and immune responses. *Journal of medical virology*. 2020;92(4):424-32.
- Liu DX, Liang JQ, Fung TS. Human coronavirus-229E,-OC43,-NL63, andHKU1. *Reference Module in Life Sciences*. 2020.
- Luo, X., et al., Prognostic value of C-reactive protein in patients with coronavirus 2019. *Clinical Infectious Diseases*, 2020. 71(16): p. 2174-2179.
- Martínez-Perez, Oscar, et al. "Association between mode of delivery among pregnant women with COVID-19 and maternal and neonatal outcomes in Spain." *Jama* 324.3 (2020): 296-299.
- Maternal Fetal Medicine and Perinatology Society. Opinion on Coronavirus Infection (COVID-19) in Pregnancy (Access on: 03.04.2020). Website: <http://www.tmfpt.org/files/Duyurular/3.bilgilendirme.Pdf>
- McIntosh, K., M.S. Hirsch, and A. Bloom, Coronavirus disease 2019 (COVID-19). *UpToDate Hirsch MS Bloom*, 2020. 5: p. 1-
- Mizrak Sahin B., Kabakci E.N. The experiences of pregnant women during the COVID-19 pandemic in Turkey: a qualitative study. *Women Birth*. 2021;34(2):162–169. doi: 10.1016/j.wombi.2020.09.022.]
- Miller, R.W.J.T., Discussion: severe mental retardation and cancer among atomic bomb survivors exposed in utero. 1999. 59(4): p. 234-235.
- Mine-Aizawa S, Takada K, Hayakawa S. Placental barrier against COVID19. *Placenta*. 2020;99:45-9.
- Mullins, E., et al., Coronavirus in pregnancy and delivery: rapid review. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2020. 55(5): p. 586-592.
- Mor, G., P. Aldo, and A.B.J.N.R.I. Alvero, The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. 2017. 17(8): p. 469-482
- Moro, F., et al., How to perform lung ultrasound in pregnant women with suspected COVID-19. 2020. 55(5): p. 593-598
- Nile SH, Nile A, Qiu J, Li L, Jia X, Kai G. COVID-19: Pathogenesis, cytokine storm and therapeutic potential of interferons. *Cytokine & growth factor reviews*. 2020;53:66-70

- Ovalı, F.J.A.K.T.B.D., COVID-19 Infections in Newborns. 2020. 25(Special Issue on COVID 19): p. 23-35
- Pan, F., et al., Time course of lung changes on chest CT during recovery from 2019 novel coronavirus (COVID-19) pneumonia. 2020.
- Patanè L, Morotti D, Giunta MR, Sigismondi C, Piccoli MG, Frigerio L, et al. Vertical transmission of coronavirus disease 2019: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 RNA on the fetal side of the placenta in pregnancies with coronavirus disease 2019–positive mothers and neonates at birth. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* MFM. 2020;2(3, Supplement):100145
- Patel, S.J., et al., Imaging the pregnant patient for nonobstetric conditions: algorithms and radiation dose considerations. 2007. 27(6): p. 1705-1722.
- Rebutini P.Z., Zanchettin A.C., Stonoga E.T.S., et al. Association between COVID-19 pregnant women symptoms severity and placental morphologic features. *Front. Immunol.* 2021;12
- Roumen RM, Van Meurs PA, Kuypers HH, Kraak WA, Sauerwein RW. Serum interleukin-6 and C reactive protein responses in patients after laparoscopic or conventional cholecystectomy. *Eur J surgery= Acta Chir.* 1992;158(10):541- 544.
- Sánchez-Luna M, Fernández Colomer B, de Alba Romero C, Alarcón Allen A, Baña Souto A, Camba Longueira F, et al. Neonates Born to Mothers With COVID-19: Data From the Spanish Society of Neonatology Registry. *Pediatrics.* 2021 Feb;147(2).
- Shanes ED, Mithal LB, Otero S, Azad HA, Miller ES, Goldstein JA. Placental Pathology in COVID-19. *American Journal of Clinical Pathology.* 2020;154(1):23-32.
- Shu Qin Wei, MD PhD, Marianne Bilodeau-Bertrand, MSc, Shiliang Liu, MB PhD, and Nathalie Auger, MD MSc. The impact of COVID-19 on pregnancy outcomes: a systematic review and meta-analysis. *CMAJ.* 2021 April 19; 193(16): E540–E548.
- T.C Sağlık Bakanlığı Olası COVID-19 Vaka Sorgulama Kılavuzu. Available from:

- https://covid19bilgi.saglik.gov.tr/depo/formlar/COVID19-VAKA-SORGULAMAKILAVUZU-A4_1.pdf. 26. T.C Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü COVID-19 (SARS-CoV-2 Enfeksiyonu) Rehberi. Bilim Kurulu Çalışması. 2020, Nisan 12; Available from: https://covid19bilgi.saglik.gov.tr/depo/rehberler/COVID-19_Rehberi.pdf
- Uptodate. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Pregnancy Issues.; Available from: <https://www.uptodate.com/contents/coronavirus-disease-2019-covid-19-pregnancyissues>.
- Walker KF, O'Donoghue K, Grace N, Dorling J, Comeau JL, Li W, et al. Maternal transmission of SARS-COV-2 to the neonate, and possible routes for such transmission: a systematic review and critical analysis. BJOG. 2020 Oct;127(11):1324–36.
- Wan, S., et al., Clinical features and treatment of COVID-19 patients in northeast Chongqing. 2020. 92(7): p. 797-806
- Wei SQ, Bilodeau-Bertrand M, Liu S, Auger N. The impact of COVID-19 on pregnancy outcomes: a systematic review and meta-analysis. C Can Med Assoc J = J l'Association medicale Can. 2021 Apr;193(16):E540–8.
- Wong YP, Khong TY, Tan GC. The Effects of COVID-19 on Placenta and Pregnancy: What Do We Know So Far? Diagnostics (Basel, Switzerland). 2021 Jan;11(1).
- World Health Organization (WHO) . Living guidance for clinical management of COVID-19: living guidance, 23 November 2021. No. WHO/2019-nCoV/clinical/2021.2. World Health Organization, 2021. (Access on: 17.01.2022).
- Vivanti AJ, Vauloup-Fellous C., Prevot S. Transplacental transmission of SARS-CoV-2 infection. Nat Commune. 2020; 11 :3572.
- Yanes-Lane M, Winters N, Fregonese F, Bastos M, Perlman-Arrow S, Campbell JR, et al. Proportion of asymptomatic infection among COVID-19 positive persons and their transmission potential: A systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2020;15(11):e0241536.
- Zambrano LD, Ellington S, Strid P, Galang RR, Oduyebo T, Tong VT, et al. Update: Characteristics of Symptomatic Women of

Reproductive Age with Laboratory-Confirmed Sars-CoV-2 Infection by Pregnancy Status - United States, 2020;69(44):1641-7.

Zhang Y, Geng X, Tan Y, Li Q, Xu C, Xu J, et al. New understanding of the damage of SARS-CoV-2 infection outside the respiratory system. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020:110195.

Zhou, Y., et al., Advances in MERS-CoV vaccines and therapeutics based on the receptor-binding domain. *Viruses*, 2019. 11(1): p. 60

BÖLÜM 4

SERVİKS KANSER OLUŞUMUNDAKİ RİSK FAKTÖRLERİ VE BİYOBELİRTEÇLER

Msc. Arash ADAMNEJAD GHAFOUR¹

Dr. Öğr. Üyesi Şeref Buğra TUNÇER²

¹ İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Kanser Genetiği BD, İstanbul, Türkiye
arash.adamnejad@gmail.com. ORCID ID: 0000-0002-4446-7783

² İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Kanser Genetiği BD, İstanbul, Türkiye
tuncerbugra@gmail.com ORCID ID: 0000-0001-8023-3223

GİRİŞ

Serviks kanseri, ülkelerde kadınların ölümüne neden olan yaygın karsinom türlerinden biridir. Günümüzde serviks kanserinin onkolojisi, onkobiyolojisi ve onkomorfolojisi çalışmaları sonucu elde edilen yeni bilgilerle karakterize edilmektedir. Servikal karsinogenezin mekanizmalarını araştırmak için çeşitli biyolojik, genetik ve moleküler immünohistokimyasal yöntemler test edilmekte ve uygulanmaktadır. Hedefe yönelik anti-tümör fonksiyonu olan ilaçlar, tanısal, prognostik ve öngörücü biyobelirteçler tanımlanmaya çalışılmaktadır. Serviks kanserinin etyopatogenezi ile ilgili birçok aydınlanmamış mekanizma bulunmaktadır ve serviks kanserinin farklı evrelerini karakterize eden birçok biyobelirteçlerin rolü günümüzde halen belirsizliğini korumaktadır. Bu nedenle, serviks kanserinin patogenezindeki sorunların derinlemesine gözden geçirilmesine, hastalık oluşumundaki riskleri ve moleküler süreçleri sistematize ederek servikal karsinogenezde biyobelirteçlerin önemini ve rolünün araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

1. SERVİKS ANATOMİSİ

Serviks kadın üreme sisteminde bulunan ve rahmin alt kısmına verilen isimdir. Genellikle silindirik ve 2-3 cm uzunluğunda olan serviks, hamilelik sırasında şekil ve boyutunu değiştirebilir. Rahim ağzına açılan kısmına iç rahim ağzı, vajinaya açılan kısmına ise dış rahim ağzı denir. Endometrium, rahim ve fallop tüplerinin birleştiği yerdir. Serviksin supravajinal kısmı mesaneden fibröz doku ile ayrılır. Endoservikal bölgede günde yaklaşık 20-60 mg servikal sekresyon (servikal mukus) üretebilen çeşitli bezler vardır. Ancak bu salgılar yumurtlama döneminde 600 mg'a kadar çıkabilmektedir. Bu akıntılar müsin adı verilen büyük proteinleri içerir, viskoz bir yapıya sahiptir ve adet döngüsünün belirli aşamalarında değişen oranlarda salgı üretir ve bu salgının %93'ü su içerir. Kalan yapısında kalsiyum, sodyum, potasyum gibi elektrolitler, glikoz gibi organik moleküller, amino asitler, proteinler, çinko, bakır, demir ve selenyum gibi nadir elementler, yağ asitleri ve amilaz gibi enzimler içerirler. Östrojen ve progesteron seviyesi, mukus yapısını etkileyen en önemli faktörlerden

biridir. Fertil olmayan dönemlerde spermin rahme girmesini önlemek için daha asidik olan mukus, spermelerin fertil dönemlerde yaşayabileceği bir ortam sağlamaktadır (Ludmir ve Sehdev, 2000).

2. SERVİKS KANSERİNİN ETİYOLOJİK FAKTÖRLERİ

HPV enfeksiyonu, çoğu servikal skuamöz hücreli karsinom tipinin gelişimi için esas olarak gerekli bir koşul olarak kabul edilmektedir. Ancak son yıllarda artan çalışmalar başta servikal adenokarsinomlar olmak üzere bazı servikal tümörlerin HPV negatif olduğunu ve HPV enfeksiyonu ile ilişkili olmadığını göstermiştir. HPV karsinogenezinin malign neoplazmların gelişimindeki nedensel rolü, sadece serviks kanseri için değil, aynı zamanda diğer birçok kanser türü için de kanıtlanmıştır. Vulva, vajina, penis, orofarenks, anal ve rektum kanserlerinde de rol oynadığı belirlenmiştir (Tanaka ve Alawi, 2018). HPV enfeksiyonu bağıntısı bulunmayan serviks karsinomlarının yanı sıra, özellikle farenks ve vulva karsinomlarının, büyük klinik öneme sahip olan daha agresif bir seyir ile karakterize olduğu bulunmuştur. Bu nedenle, WHO'nun 2020 yılında yayınlanan kadın genital organ tümörleri sınıflandırmasının beşinci baskısında, serviks kanseri için HPV ile ilişkili ve HPV ile ilişkili olmayan serviks tümörleri gibi kategoriler dahil edilmiştir. Bu tümör grubunun ayırıcı tanısı için, HPV enfeksiyonunun belirleyicisi olan p16 veya HPV test sonucunun belirlenmesi gerekir (Park ve diğerleri, 2021). 13 farklı HPV alt tipinin karsinogenez de rol oyanayabileceği tanımlanmıştır (Kelly ve diğerleri, 2019; Kilic, Cracchiolo, Gabel, Haffty ve Mahmoud, 2015; Mitildzans, Arechvo, Rezeberga ve Isajevs, 2017; Pan ve diğerleri, 2015; Randall ve diğerleri, 2009; Zubel, Flechtenmacher, Edler ve Alonso, 2009). Servikal karsinogenezde yüksek onkogenik riske sahip en önemli HPV alt tip 16 ve 18 sıklıkla servikal kanserli hastalarda saptanmaktadır (Park ve diğerleri, 2021).

3. SERVİKAL KARSİNOGENEZ MEKANİZMALARI

HPV'nin etken olduğu serviks kanseri çoğu vakada belirli sürelerde gelişmektedir, bu da tarama programlarının tümör oluşum sürecinin farklı aşamalarındaki belirteçlerin tanımlanabilmesine yol açmaktadır. İnsan papilloma virüsü DNA'sının servikal epiteliositlerin

genomuna entegrasyonu, ana hedefleri p53 ve pRb olan viral onkogen E6 ve E7'nin yanı sıra son verilere göre epigenetik faktörleri de etkileyen proteinler dahil diğer biyomoleküllerin kalıcı olmasına yol açmaktadır. Bu değişiklikler kontrolsüz proliferasyona ve karsinogenezin indüklenmesine yol açmaktadır (Park ve diğerleri, 2021; Yeo-Teh, Ito ve Jha, 2018). HPV enfeksiyonunun gelişiminde çeşitli klinik seyirler tanımlanmıştır (Rogovskaya, 2016).

3.1 Latent dönem

Virüs, servikal epitelyumun bazal tabakasının keratinositlerinde bulunur. Sito/histolojik inceleme ile teşhis konulamaz. Bazal epitel hücrelerinde epizomal durumda az sayıda HPV kopyasının bulunduğu varsayılmaktadır (Rogovskaya, 2016).

3.2 Subklinik veya /replikasyon aşaması

Epitel hücrelerinde HPV replikasyonu sonucunda kopya sayısı artar, protein sentezi, hücre olgunlaşması ve farklılaşması engellenir. Sitolojik veya histolojik incelemelerle koilositoz belirlenir. Çoğu durumda, enfeksiyon bulaşıcıdır (Rogovskaya, 2016).

3.3 Klinik seyir (kanser öncesi lezyon)

Ekzofitik kondilom ve neoplazi şeklinde belirtiler sonrası virüs kalıcı hale gelir. HPV genomu, epitelyal genoma entegre olmuştur. Bu aşamada epitel proliferasyonunun ve farklılaşmasının açık bir ihlali gerçekleşmektedir. Sito/histolojik değişiklikler ve intraepitelyal neoplastik süreçlerin belirtileri CIN1, CIN 2 ve CIN3 ile birlikte in-situ karsinom ortaya çıkar. HPV ile ilişkili servikal tümörlerde karsinogenezin ana mekanizmaları büyük ölçüde insan papilloma virüsü genomunun yapısı tarafından belirlenir. HPV genomunun, 6.8- 8 Kb uzunluğunda üç ayrı bölgenin varlığı ve çift sarmallı dairesel bir DNA ile temsil edildiği bilinmektedir;

(1) Başlangıç bölgesi, viral replikasyon moleküllerini ve HPV yaşam döngüsünün farklı aşamalarında yer alan düzenleyici proteinleri kodlayan genleri (E) içerir: E1 ve E2 viral replikasyondan sorumludur. E4, virüs parçacıklarının olgunlaşmasına katılır. E5, E6 ve E7 onkogenlerdir. E6 ve E7 anahtar viral onkogenlerdir.

(2) Geç gen b3lgesi, vir3s kapsidi oluşumunda yer alan yapısal proteinleri kodlayan genleri (L) içerir. (3) uzun kontrol b3lgesi (LCR), viral DNA replikasyonunu ve transkripsiyonunu kontrol etmek için d3zenleyici elementler içerir (Balasubramaniam, Balakrishnan, Oon ve Kaur, 2019). HPV'nin epitel h3cre DNA'sına entegre edilmesiyle, E2 geninin bulunduğu yerde, E6 ve E7 genlerinin aşırı ekspresyonuna ve E6 ve E7 proteinlerinin aşırı 3retimine yol açan, genin fonksiyonel b3lgesinde bir delesyon meydana gelmekte, p53 ve Rb genlerinin 3r3n3 olan ve daha sonra reg3lasyonu ihlal eden ve h3cre proliferasyonunu arttıran mekanizmaya neden olmaktadır (Yeo-Teh, Ito ve Jha, 2018). E6 ve E7 genleri karsinogenezde merkezi bir rol oynar: E6 ve E7 onkogenlerinin 3r3n3leri h3crenin Ubikitin-Proteozom sistemini (UPS) uyarır, retinoblastoma proteinini (pRb) bozar ve konak h3creyi vir3s replikasyonuna izin veren S fazına sokar. Aynı zamanda, HPV E6, p53'e zarar vererek apoptozu bozar. Bu h3cre içi olaylar, genomik kararsızlığa ve onkogenlerin aktivasyonuna yol açar (Yeo-Teh, Ito ve Jha, 2018) .

T3m HPV pozitif h3crelerde genoma viral entegrasyonun g3zlenmediğine dair kanıtlar vardır. Kanser Genom Atlas'tan elde edilen 3rnekler 3zerinde yapılan bir çalışmada, vakaların %100'3nde HPV tip 18 genom entegrasyonunun meydana geldiğini, HPV tip 16'lı 3rneklerde ise viral genomun vakaların %76'sında entegre olduğunu bulunmuştur (Korolenkova ve Ermilova, 2011; Volkova, Pashov ve Omelchuk, 2021). Bu g3zlemlerde, E6 ve E7'nin d3zenleyici b3lgelerinde sıklıkla genetik veya epigenetik değişiklikler g3zlenmektedir ve bu da bu iki onkogenin d3zenlenmesinin bozulmasına yol açar. Bu nedenle, kanser ilerlemesi ve HPV genom entegrasyonu ayrı olaylar olmasına rağmen, E6 ve E7'nin d3zensizliği servikal onkogenezdeki en 3nemli olaydır (Balasubramaniam, Balakrishnan, Oon ve Kaur, 2019; Bhattacharjee ve Sengupta, 2006; Cancer Genome Atlas Research ve diğerleri, 2017; Rogovskaya, 2016; Sen, Ganguly ve Ganguly, 2018). E6 ve E7'nin ana hedefleri p53 ve pRb'dir. Ancak HPV'nin y3ksek onkogenik aktivitesini belirleyen başka fakt3rlerin ve hedeflerin de olduğu belirlenmiştir. Konakçı h3cre DNA sentezini etkileyebilen çalışmalarda çok yer almayan E5'in onkogenik

etkileri bunlardan biri olarak belirlenmiştir (Wasson ve diğerleri, 2017; Yeo-Teh, Ito ve Jha, 2018). Ayrıca HPV'nin genoma entegrasyonu sırasında E5 ekspresyonunun sıklıkla bozulduğu da bildirilse de, servikal karsinogenezin erken evrelerinde ve ilerlemesi sırasında daha az oranda yer aldığı tahmin edilmektedir. Ek olarak, E5'in bozulmuş keratinosit farklılaşmasına katkıda bulunduğu da görülmektedir (Lee, Rose, Sahasrabudde, Zhao ve Duggan, 2017).

4. SERVİKAL KANSER BİYOBELİRTEÇLERİ

Serviks kanserinin genomik çalışma sonuçları, esas olarak yüksek KRAS, ARID1A ve PTEN mutasyonlarının sıklığına sahip HPV-negatif tümörlerden oluşan endometrioid benzeri kanserlerde mutasyona uğramış farklı gen grupları ve gen amplifikasyonlarını tanımlanmıştır. Servikal kanser vakalarının %70'inden fazlasında, PI3K/MAPK ve TGF β gibi sinyal yollarından birinde veya her ikisinde genomik değişikliklerin olduğu bildirilmiş ve çalışmayla serviks kanserinin farklı moleküler alt tiplerinin varlığını desteklenmiştir (Koeneman ve diğerleri, 2019).

Çeşitli araştırmalara göre HPV enfeksiyonu ve serviks kanserinde farklı epigenetik değişiklikler ve DNA metilasyon süreçleri tespit edilmiştir ve bu süreçlere mikroRNA'ların katılımı da tanımlanmıştır (Charakorn ve diğerleri, 2018). Tümör baskılayıcı p16'nın spesifik olarak miR-29a tarafından epigenetik düzenlenmesini tanımlanmış, bu da serviks kanseri için miRNA bazlı terapötik seçeneklerin araştırılmasını katkı sağlamıştır (Wang ve diğerleri, 2021). Serviks kanserinin farklı evrelerini içeren karsinomların gelişimi sırasında, DNA ve tümör baskılayıcı genlerin hiper ve hipometilasyonu gibi birçok epigenetik değişikliğin ve düzenleyici genlerin promotör bölgelerine ilişkin histon modifikasyonunun gözlemlendiği bilinmektedir. Meta-analiz sonuçlarına dayanarak, p16INK4a hipermetilasyonunun serviks kanserinde karsinogenezin progresyonu için bir epigenetik belirteç olarak değerlendirilebileceği bildirilmiştir (Tornesello, Buonaguro, Giorgi-Rossi ve Buonaguro, 2013). Tümör baskılayıcı genlerin, onkogenlerin ve büyüme faktörlerinin ekspresyonu, deasetilazlar ve histon asetiltransferazlar gibi birçok histon modifiye

edici enzim tarafından düzenlenmektedir. Histon ifadesindeki değişiklikler ayrıca gen ifadesinin epigenetik kontrolüne de yol açmaktadır (Lee, Rose, Sahasrabudde, Zhao ve Duggan, 2017). DNA metilasyonunun CIN1'e kıyasla CIN2 ve CIN3'te anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur (Kelly ve diğerleri, 2019). DNA metilasyon testi, ASCUS + sitolojik çalışması, HPV16/18 genotipine kıyasla yüksek özgüllük ve duyarlılık ile karakterize edilmiştir (Kelly ve diğerleri, 2019). Epigenetik değişikliklerin servikal karsinogenezdeki rolünü anlamak, serviks kanseri tanı ve tedavisi için etkili yöntemlerin geliştirilmesine yardımcı olacağı düşünülmektedir (Volkova, Pashov ve Omelchuk, 2021).

Günümüzde, dairesel RNA'ların (circRNA'lar) kadın genital karsinomunun gelişiminde ve onkogenezdeki olası rolü araştırılmaktadır. Yumurtalık, endometriyal, servikal ve meme karsinomunda circRNA'ların prognostik, tanısal ve terapötik potansiyele sahip olduğuna düşünülmektedir (Bonelli, Borrelli, Tuccillo, Buonaguro ve Tornesello, 2021; Tornesello ve diğerleri, 2020; Tran ve diğerleri, 2020). Dairesel RNA'lar, kodlamayan RNA'ların yeni bir sınıfıdır. Çeşitli kanser türlerinde, bu biyomoleküllerin anormal ekspresyonu meydana gelir, örneğin virüsle ilişkili malign neoplazilerde - HPV ile ilişkili anogenital karsinomda, orofaringeal karsinomda tespit edilmişlerdir (Bonelli, Borrelli, Tuccillo, Buonaguro ve Tornesello, 2021). circRNA'lar onkogenez, kanser progresyonu ve ilaç direnci ile ilgili bulunmuş ve bunlardan bazılarının faydalı tanısal ve prognostik belirteçler olabileceği düşünülmektedir. Serviks kanserinde, onkogenin moleküler mekanizmalarının anlaşılmasına katkı sağlayan miRNA, circRNA ve Uzun kodlamayan RNA'ların (lncRNA) ekspresyon farklılıkları ortaya çıkarılmış ve bu moleküllerin, onkolojik tarama ve hastalığın klinik seyrinin izlenmesi için potansiyel biyobelirteçler olabileceği düşünülmektedir (Bonelli, Borrelli, Tuccillo, Buonaguro ve Tornesello, 2021; Di Domenico M.; Tornesello ve diğerleri, 2020). Uzun kodlamayan RNA'ların (lncRNA'lar) bazıları servikal, lösemi, meme, kolon ve karaciğer kanseri gibi belirli kanserlerin gelişimi, ilerlemesi ve metastazı ile ilişkili bulunmuştur. lncRNA, transkripsiyonel ve transkripsiyon

sonrasında rol oynayabilir ve çeşitli hastalıkların gelişimine, ilaç direncine, sinyal modülasyonuna, DNA onarımına, hücre döngüsünün düzenlenmesine ve apoptoza katkıda bulunabilir. Bazı lncRNA'ların anormal ekspresyon paternleri servikal kanser hücrelerinde ve servikal prekanseröz lezyonlarda bulunmuştur (Cancer Genome Atlas Research ve diğerleri, 2017). Hücre çoğalması, göçü, istilası ve apoptoz süreçlerinde yer alabilen lncRNA'ların rolü HPV ve serviks kanserinde araştırılmaktadır. LncRNA'lar prognostik ve prediktif belirteçler için adaylar olarak değerlendirilebilmektedirler (Cancer Genome Atlas Research ve diğerleri, 2017). Yüksek dereceli intraepitelyal neoplazmların yaklaşık %20-40'ının kendiliğinden regrese olduğu da bilinmektedir. Bununla birlikte, insan telomeraz RNA geninin 3q26'da lokalize olduğu kromozomal bölge 3q'daki artışlar, CIN ve serviks kanseri lezyonlarındaki hastalık derecesi ile ilişkili bulunmuştur. In situ hibridizasyon kullanılarak hastalığın prognozu için genetik bir belirteç olarak 3q26 bölgesinde ekspresyon analizleri, prognoz ile ilişkili hastalığın korelasyonunu kurmak için araştırılmıştır. Tanı biyopsisi sırasında bu lokalizasyondaki ekspresyon seviyesinde artış olmaması, hastalığın regresyon olasılığının yüksek olduğunu gösterebileceği bildirilmiştir (Park ve diğerleri, 2021; Volkova, Pashov ve Omelchuk, 2021).

4.1 Serviks Kanserinde HPV Enfeksiyonu ve Karsinogenezin Biyobelirteçleri

Çoğu servikal lezyondaki potansiyel tanısal ve prognostik biyobelirteçler, HPV enfeksiyonu ile ilişkili moleküler mekanizmalara dayanmaktadır (Nakamura, Obata, Daikoku ve Fujiwara, 2019; Volkova, Pashov ve Omelchuk, 2021). HPV aracılı onkogenез için önemli klinik belirteçler kullanılabilir;

1. virüsün PCR yöntemleriyle belirlenmesi,
2. viral yükün değerlendirilmesi;
3. E6/E7 mRNA tespiti,
4. p16INK4a, p53, Rb ve p16INK4a'nın metilasyonu,

5. immünohistokimya ile belirlenen hücre döngüsü, proliferasyon ve apoptozun diğer biyobelirteçleri (Mitildzans, Arechvo, Rezeberga ve Isajevs, 2017).

En yaygın olarak çalışılan biyobelirteçler, servikal epitel hücrelerinde HPV DNA'sı ve proliferasyonun bir belirteci olan Ki-67 ve ek olarak, HPV onkogenik riski ile doğrudan ilişkili olan p16INK4a proteininin immünohistokimyasal ekspresyonudur (Balasubramaniam, Balakrishnan, Oon ve Kaur, 2019).

p16 proteini hücre döngüsü düzenlemesine katılır ve siklin bağımlı CDK4/6 kinaz aktivitesinin bir inhibitörüdür. Normalde hücredeki konsantrasyonu çok düşüktür. p16'nın aşırı ekspresyonu, HPV E7 viral onkogeninin aktif ekspresyonunu ve retinoblastoma geninin E7 virüs proteini tarafından etkisizleştirilmesini neden olur. Bu, HPV'nin yüksek onkogenik etki gösterdiği malign neoplazmlarda gözlemlenir (Cancer Genome Atlas Research ve diğerleri, 2017; Peres ve diğerleri, 2016) p16, sadece skuamöz hücreli neoplaziler ve skuamöz hücreli karsinom tanısında değil, aynı zamanda servikal glandüler neoplazmların çeşitli histolojik alttiplerinin tanımlanmasında da duyarlı ve spesifik bir belirteçtir (Kilic, Cracchiolo, Gabel, Haffty ve Mahmoud, 2015).

HPV enfeksiyonu anöploidi, kromozomal anomaliler ve DNA hipermetilasyonuna yol açabilir. Servikal neoplazilerdeki potansiyel biyobelirteçler, özellikle 3q26 bölgesinde bulunan telomeraz bölgesinde (TERC) floresan in situ hibridizasyon (FISH) ile tespit edilebilen servikal karsinomlardaki metilasyon faktörleri ve kromozomal anomalilerdir (Volkova, Pashov ve Omelchuk, 2021) Onkogenik HPV E6 proteinlerinin, kromozomların telomerik uçlarında DNA'yı restore eden ve böylece hücre bölünmesi kısıtlamasını artıran telomeraz ters transkriptazın (TERT) transkripsiyonunu desteklediği gösterilmiştir (Yeo-Teh, Ito ve Jha, 2018). Telomeraz dizisini (TERC) içeren kromozom 3q ve TERT genini içeren kromozom 5p kazanımları, intraepitelyal neoplazi ve lezyonların teşhisi için yararlı bir belirteç olabileceği bildirilmektedir (Hwang ve Shroyer, 2012; Yeo-Teh, Ito ve Jha, 2018).

Serum biyobelirteçleri, serviks kanseri de dahil olmak üzere birçok malign neoplazmin izlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Charakorn ve diğerleri, 2018; Charakorn C.; Zhou, Li, Zhang ve Hu, 2017). Skuamöz hücreli karsinom antijenininin 1977'de keşfedilen biyolojik belirteci, SCC-Ag'dir. Skuamöz hücreli karsinom antijeni (SCCa), skuamöz hücreli karsinom için en yaygın kullanılan ve güvenilir tümör belirteçidir (Zhou, Li, Zhang ve Hu, 2017). Kan serumundaki SCA seviyesi üzerinde yapılan analiz sırasında, SCA'nın güvenilir bir prognostik faktör olarak hareket edebileceği, lenf düğümlerine servikal kanser metastazlarının bir tahmincisi olabileceği değerlendirilmiştir. Ayrıca, BT taraması veya manyetik rezonans görüntülemeye (MRI) ek olarak, pelvik ve/veya para-aortik lenf nodlarının laparoskopik değerlendirmesinde yüksek SCC'da kullanılır (Zhou, Li, Zhang ve Hu, 2017). Servikal skuamöz hücreli karsinomlu hastalarda serum SCC-Ag'nin nüks ve mortalite ile ilişkili olduğu bildirilmiş Ayrıca belirtecin serviks kanseri hastalarında hastalık progresyonunun izlenmesinde de yararlı olabileceği belirtilmiştir (Charakorn ve diğerleri, 2018). HPV ile ilişkili servikal patolojisi olan kadınların taranması ve yönetimine rağmen, servikal kanser taramasını, teşhisini ve prognozunu daha da iyileştirmek için klinik olarak güvenilir biyobelirteç çalışmaları devam etmektedir (Nakamura, Obata, Daikoku ve Fujiwara, 2019; Tornesello, Buonaguro, Giorgi-Rossi ve Buonaguro, 2013).

4.2 Serviks Kanseri Hücresel Döngüsü Biyobelirteçleri

Servikal neoplazilerde hücre döngüsü, proliferasyon ve apoptoz ile ilişkili anahtar biyobelirteçler mevcuttur. Ki-67, siklin bağımlı kinazlar ve bunların inhibitörleri, HPV E7'nin aktif ekspresyonu ile ilişkili HPV enfeksiyonu, p16INK4a, pRb proteini, p53 gen ürünleri, anti-apoptotik protein BCL-2 ve pro-apoptotik protein BAX bunlardan bazılarıdır. Hücre döngüsü aşamalarını doğrulamak için de kullanılan yaygın immünohistokimyasal belirteçler vardır.

Bunlar;

1. Döngünün farklı aşamalarında çoğalan hücrelerin tespitinde kullanılan Ki-67, G1 fazının sonunda ortaya çıkar ve S fazında artıp, en fazla mitotik fazda ifade edilir.
2. alt birimler tarafından aktive edilen siklin bağımlı kinazlar (Cdk): D siklinleri (D1-D3), G0'dan G1 fazına hücre geçişinde rol oynarlar. Siklin E, G1'den S fazına ve siklin B mitoz fazına girer. Ancak çoğu durumda siklin D1 yaygın olarak kullanılmaktadır.
3. çeşitli kinazların aktivasyonunu bloke eden sikline bağımlı kinaz inhibitörlerdir (CKI). Bazıları birden fazla Cdk'yi engelleyebilir (p21CIP4, p27KIP1, p57KIP2) (Van Zummeren ve diğerleri, 2018).

Ki-67, Cyclin D1 ve p16INK4a sıklıkla neoplastik süreçleri (skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom) doğrulamak için ve HPV ile ilişkili karsinomların ve metaplastik süreçlerin çeşitli aşamalarının ayırıcı tanısı için kullanılır. Enfeksiyon sırasında HPV E7 ekspresyonu, virüsün onkogenik tipleri ve anti-apoptotik p53 gen ürünü ile ilişkilidir. Birçok neoplazide, otonom hücre proliferasyonu, kromozom 11q13 üzerindeki gen amplifikasyonu, hücre çekirdeğinde aktif olmayan bir pRb proteini formunun yokluğu veya varlığı ve MCM2 ekspresyonunun artması nedeniyle siklin D1'in aşırı ekspresyonu ile ilişkilidir (Mega Tiber ve diğerleri, 2014).

Ki-67/MIB-1 ile serviks kanseri arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, bu belirtecin prognoz ile yüksek korelasyonu nedeniyle prognostik bir faktör olarak kullanılabilirliği bulunmuştur (Bosse, Lax, Abu-Rustum ve Matias-Guiu, 2021). Ki-67 ve p16ink4a biyobelirteçlerinin ekspresyonunun, CIN1-CIN3 ve E4 intraepitelyal neoplazmalarının ayırıcı tanısını ve servikal epitel hücrelerinde hipermetilasyonu tanımlamak için H&E boyama ile kombinasyon halinde değerlendirilmesi, potansiyel servikal biyobelirteçler olarak önerilmiştir (Peres ve diğerleri, 2016). Farklı derecelerde servikal intraepitelyal neoplazisi olan 58 hastanın muayenesinde üç immünohistokimyasal belirteç Ki-67, p53 ve p63 kullanılmış, CIN II ve CIN I'e kıyasla CIN III tanılı kişilerde biyobelirteçlerin ekspresyonunda

önemli bir artış olduğu bulunmuştur. Ayrıca CIN I'de p53 ve p63 ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış tespit edilmiştir. Çalışmalar, p53 ve p63 belirteçlerinin güvenilir olduğuna ve reaktif değişikliklerin CIN I'den ayırt edebileceğine belirtilirken, üç biyobelirtecini de (Ki-67, p53 ve p63) CIN III ve CIN II'nin ayırıcı tanısı için yüksek duyarlılığa ve özgüllüğe sahip olduğu bildirilmiştir (Shukla, Dass ve Pujani, 2014).

Ki-67/MIB1, serviks kanserinin prognostik bir belirteci olarak kabul edilir (Chen, Huang, Bai ve Lee, 2016). Bununla birlikte, malignite derecesi, lenf nodu tutulumu ve metastaz gibi diğer hastalık özellikleri hastanın sağkalımını etkileyebilmektedir (Lee, Rose, Sahasrabudde, Zhao ve Duggan, 2017). Servikal smear immünohistokimyasal incelemesinde TOP2A ve Ki-67 antikörlerinin serviks kanseri taraması için kullanılabileceği belirtilmiştir. Serviks kanserinde nükleer proteinler Ki-67 ve DNA topoizomeras tip IIa'nın da (TOP2A) ekspresyonunun arttığı tespit edilmiştir (Bosse, Lax, Abu-Rustum ve Matias-Guiu, 2021). Servikal LSIL vakalarında p16, sitokeratin 7 (CK7) ve histomorfometri ile kombinasyon halinde Ki-67 protein immünohistokimyasal ekspresyonunun değerlendirilmesi sırasında, bu belirteçlerin hastalık progresyonu eğilimi olan LSIL'i tanımlamada faydalı olabileceği belirtilmiştir. Bu nedenle p16, CK7 ve Ki-67, özel dikkat gerektiren servikal LSIL lezyonlarını tanımlamak için yararlı biyobelirteçler olabileceği düşünülmektedir (Volkova, Pashov ve Omelchuk, 2021).

4.3 Serviks Kanserinde Apoptoz Biyobelirteçleri

p53 gen ürünleri olan anti-apoptotik protein BCL-2 ve pro-apoptotik protein BAX, normal ve tümör hücrelerinde apoptotik süreçlerde önemli roller oynamaktadır. p53 geni, birkaç siklin bağımlı kinazın düzenlenmesi ile ilişkilidir. DNA hasarı sonrası hücre döngüsünü, replikasyon ve hücre bölünmesinden önce restore etmek için durdurur, bu da genom stabilitesini sağlamaktadır. Onarım mümkün değilse, p53, BAX ve FAS gibi pro-apoptotik genlerin transkripsiyonunu uyarır, yani hücre apoptozunu indükler, bu da mutasyonların ve neoplastik hücrelerin oluşumunu önlemeye yardımcı

olmaktadır. P53, apoptoz indüksiyonu, hücre döngüsü regülasyonu, büyüme inhibisyonu ve anjiyogenez ve muhtemelen diğer hücre içi süreçlerde yer alan çeşitli proteinlerin ekspresyonunu etkilemektedir (Mega Tiber ve diğerleri, 2014). Normalde, p53 hızla inaktive olurken, genetik instabilite koşulları altında birçok tümör hücresinde p53 genindeki oluşan mutasyonlar neoplastik sürecin gelişimini göstermektedir. Kromozom 18'de lokalize olan p53 geninin artmış ekspresyonu veya anormal ekspresyon ürünleri, serviks kanseri, endometrioid kanser ve seröz over kanseri dahil olmak üzere birçok malign neoplazide gözlenir (Peres ve diğerleri, 2016). Apoptoz düzenleyicileri ayrıca, hücresel kaspazların işlevini etkileyen anti-apoptotik protein BCL-2'yi (B hücreli lenfoma/lösemi-2) ve pro-apoptotik protein BAX'ı da içermektedir. Birçok neoplazide, BCL-2'nin artan ekspresyonu sıklıkla gözlenir, BCL-2, esas olarak mitokondrinin dış zarında bulunan ve 16 üyeden oluşan apoptozun ana inhibitörlerinden biridir. Bazıları apoptozu inhibe ederken (BCL-2, BCL-XL, vb.), diğerleri onu aktive eder (Bax, Bad, Bid, vb.). BCL2, BCL-XL ve BAX, hücre ölüm mekanizmalarından bağımsız olarak mitokondriyal morfolojiyi ve hücre metabolizmasını etkiler. BCL2 ve BCL-XL apoptozu inhibe eder ve endoplazmik retikulum dahil olmak üzere hücre içi membranlara entegre olan ve BAD ve BAX gibi proapoptotik BCL2 ailesi proteinlerini inaktif oluşumla bağlayarak apoptozu inhibe eden önemli anti-apoptotik proteinlerdir (Volkova, Pashov ve Omelchuk, 2021). BCL-2'nin normal hücrede birçok fonksiyonu da bulunmaktadır. Mitokondride zarı stabilize eder ve apoptozu neden olan çeşitli faktörlerin salınımını engeller. BCL-2/Bax kompleksi oluştuğunda, eski inhibitör aktivitesini kaybeder. Bax, apoptoz sinyalini almadan önce sitoplazmada bulunur ve sinyali aldıktan sonra mitokondriyal membranlara geçerek onları geçirgen hale getirir ve membran boşluğundan sitokrom C ve AIF (apoptoz indükleyici faktör) salınımına neden olarak çekirdeğe nüfuz eder, burada kromatin yoğunlaşmasına ve nükleer parçalanmaya neden olur, ardından apoptotik kaspazların aktivasyonu gelir. Sitokrom C, prokaspaz 9'u uyaran Apaf-1'i aktive eder; bu da kaspaz kaskadını aktive ederek sonraki sitolojik değişiklikleri oluşturur (Volkova,

Pashov ve Omelchuk, 2021). Apoptoz, kanser hücrelerinin radyoterapi duyarlılığında önemli bir rol oynar. BCL2, BCL-XL ve BAX gibi BCL2 ailesi proteinleri, radyoterapiye bağlı apoptozun en önemli düzenleyicileri arasındadır (Kilic, Cracchiolo, Gabel, Haffty ve Mahmoud, 2015). Serviks kanserinde BCL2 ve BAX'ın immünohistokimyasal ekspresyonunun, hastalığın ilerlemesi ve tümör hücrelerinin radyosensitivitesi ile ilişkili olduğunu gösteren veriler mevcuttur. Bu nedenle, primer servikal kanserli ve nüks hastaların prognozu değerlendirilirken, BCL2 için pozitif boyama, 5 yıllık daha yüksek sağkalım ile ilişkilendirilmektedir. Radyoterapi dirençli ve radyosensitif serviks kanseri ile ilgili, radyoterapi sonrası BAX pozitif tümörlü hastaların BAX negatif tümörlü hastalara göre daha iyi yanıt verdiği, BCL2 pozitif tümörlü hastaların ise kötü yanıt verdiği bulunmuştur. BCL2 negatif tümörü olan hastalar için; Radyoterapi tedavisinden sonra artan BAX ekspresyonu, iyi sağkalım ile ilişkilendirilirken, artan BCL2 ekspresyonu, zayıf sağkalım ile ilişkilendirildi. Radyoterapi tedavisinden sonra BAX ve BCL2 ekspresyon seviyeleri, serviks kanseri hastalarında için faydalı prognostik belirteçler olarak tanımlanmıştır. Bu nedenle, serviks kanserinde, BCL2 ve BAX'in yanı sıra p53'ün ekspresyon seviyelerinin de radyoterapi tedavisinin tümör yanıtı ile ilişkili değerlendirilebileceğini bildirmektedir (Kilic, Cracchiolo, Gabel, Haffty ve Mahmoud, 2015). Kemoterapi ve radyoterapi tedavisi muhtemelen DNA metilasyon modelinde epigenetik değişikliklere ve invaziv serviks kanseri dokularındaki birkaç genin transkript seviyelerinde değişikliklere neden olmaktadır. BAX, BRCA1 ve ESR1 genlerinin promotör metilasyonu tedavi sonrası hastalarda önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. MYOD1 ve MLH1 gen transkriptlerinin ise ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur (Zhou, Li, Zhang ve Hu, 2017). Ki-67, p53, BCL-2, Bax, kaspaz-3 ve COX-2 gibi serviks kanserinde NDP'ye duyarlılık ile biyolojik faktörlerin immünohistokimyasal ekspresyonu arasındaki ilişki incelendiğinde, p53'ün düşük veya negatif ekspresyonunun, BCL-2, COX-2 ve bölünmüş kaspaz-3'ün yüksek veya pozitif ifadesi ise NDP'ye karşı yüksek duyarlılıkla önemli ölçüde ilişkiliyken, düşük duyarlılık

grupları arasında Ki-67, Bax veya ERCC1 ifadesinde anlamlı bir fark bulunmamıştır. Elde edilen verilere göre, tedaviden önce biyopsi veya cerrahi numunelerinde bu spesifik faktörler için immün boyama yapılarak platin duyarlılığının tahmin edilebileceği ve bu belirteçlerin ekspresyon profillerinin serviks kanseri için bireyselleştirilmiş kemoterapi planlaması için ek bilgi sağlayabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, ilgili moleküllerin tedavi etkinliğini en üst düzeye çıkarmak için bireyselleştirilmiş kemoterapi, serviks kanseri vakalarında klinik olarak değerli hale gelmektedir. (Kato, Hasegawa, Torii, Udagawa ve Fukasawa, 2015). Anti-apoptotik proteinler SAG, BCL-xL ve p53'ün ekspresyon profilinin, evre IIB-IVA servikal kanserli hastaların genel sağkalımı ile negatif ilişkili olduğu gösterilmiştir. Anti-apoptotik protein SAG, mitokondriyal apoptotik proteinler BCL-xL ve BAK ve tümör baskılayıcı proteinler p73 ve p53'ün ekspresyon profili, klinik parametreler ve gözlem süresi boyunca hayatta kalma ile ilişkilerini değerlendirmek için gerçek zamanlı PCR ile analiz edilmektedir (Mega Tiber ve diğerleri, 2014). HPV enfeksiyonu ile p53 ve BCL2 proteinlerinin aşırı ekspresyonu arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için muhtemelen daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünülmektedir ve BCL2 ekspresyonu malign tümörlerin prekanseröz lezyonlardan ayırt etmek için bir tanısal belirteç olarak kullanılabilirken, prognostik bir gösterge olarak da kullanılabilirliği düşünülmektedir (Shukla, Dass ve Pujani, 2014).

4.4 Sitokeratinlerin ifadesi ve epitelyal farklılaşmanın biyobelirteçleri

Epitelde farklı sitokeratinlerin ekspresyonu, hem normal hücresel elementler hem de servikal epitel oluşumunun malign neoplazmaları değerlendirmek için kullanılabilir (Lee, Lee ve Cho, 2017; Paquette, Mills ve Stoler, 2016; Yeo-Teh, Ito ve Jha, 2018). Servikal epitel malignitelerinde, epitel tabakasının sitokeratin profili ihlal edilir. Farklı sitokeratinlerin CK7, CK8, CK17 ve CK19 ekspresyonundaki değişiklikler tarif edilmiştir. Sitokeratinler (CK), hücre iskeletinin epitel farklılaşmasını gösteren ara filamentlerdir. CK'nın 20 alt tipi tanımlanmış ve farklı insan epitel hücrelerinde

tanımlanmıştır. (Volkova, Pashov ve Omelchuk, 2021; Yeo-Teh, Ito ve Jha, 2018). Normal olarak, CK7 ve CK19 ekspresyonu gastrointestinal sistemin tek tabakalı epitelinde, safra yollarında, pankreasta, pulmoner alveollerde, endometriumda ve böbreklerin toplama kanallarında bulunmaktadır. Geçiş epitel hücrelerinde CK19, tabakalı skuamöz epitelin (deri hariç) bazal tabakasında eksprese edildiği bildirilmiştir. CK17 normalde epitelin bazal katmanlarında bulunmaktadır (Tanaka ve Alawi, 2018). CK8 servikal rezerv hücrelerinde, glandüler epitel hücrelerinde ve olgunlaşmamış skuamöz metaplazide eksprese edildiği tespit edilmiştir, ancak skuamöz epitel hücrelerinde eksprese edilmediği bulunmuştur. CK17, yedek hücrelerde ve olgunlaşmamış metaplastik hücrelerde bulunur, ancak skuamöz epitelde veya olgun skuamöz metaplazi alanlarında bulunmamaktadır. CK izotipi, hücrelerin tipine ve buldukları yere göre değişmektedir. CaM-kinaz benzeri 1 (DCAMKL-1), Lgr5, CD133, a-fetoprotein, sitokeratin-9 (CK19), Lin28 ve c-Myc'nin hepatoselüler karsinom kök hücrelerinde (CSC'ler) aktive olduğu belirlenmiştir. DCAMKL-1, CSC'lerin spesifik bir belirteci olabileceği bildirilmektedir (Yeo-Teh, Ito ve Jha, 2018). Epitel hücreleri, çeşitli yaralanmalara yanıt olarak sitokeratin profilini değiştirebilmektedir. Rejenerasyon ve metaplastik süreçler sırasında sitokeratin ekspresyonunun farklılaşmasında kusurlu varyantlarda tanımlanmıştır (Balasubramaniam, Balakrishnan, Oon ve Kaur, 2019).

CK8 ve CK17, CIN ve serviks kanseri dokularında bulunan alt tiplerdir (Yeo-Teh, Ito ve Jha, 2018). İncelemelere göre, HPV ile ilişkili servikal karsinomlarda sitokeratin CK7 ve CK19'un immünohistokimyasal ekspresyonu tanımlanmıştır (Hwang ve Shroyer, 2012). Adenokarsinomların CK8, CK18, CK19 ve sıklıkla CK7'yi eksprese ettiği bilinmektedir. HPV ile ilişkili servikal karsinomlarda CK7, CK19 ve p16 ekspresyonunun bir analizinde, hem CK7 hem de CK19'un servikal neoplazilerde eksprese edildiği bulunmuştur (Chen, Huang, Bai ve Lee, 2016; Volkova T.O.). Sitokeratin CK7, geleneksel olarak yüksek onkogenik HPV epitel hücre enfeksiyonu bölgesi olduğu düşünülen serviksin skuamöz birleşimini işaretler. CK7/CK19 ve serviks kanseri arasındaki olası ilişkiye rağmen, HPV aracılı servikal

karsinogenezde CK7/CK19 tutulumunun mekanizmaları henüz anlaşılammıştır (Lee, Lee ve Cho, 2017; Yeo-Teh, Ito ve Jha, 2018).

4.5 Serviks Kanserinde Hücre Adezyonu, İnvazyon ve Metastaz Belirteçleri

Hücre proliferasyonu, apoptoz ve farklılaşma süreçleri, hücreler arası etkileşimler, E-cadherin, CD44 ve matriks metalloproteinazlar gibi adezyon, invazyon ve metastaz faktörleri epitelyal tümörlerin karsinogenezinde büyük önem taşımaktadırlar. Bir transmembran glikoproteini olan E-cadherin (E-cad), epitel hücrelerinin hücreler arası bağlantılarının gücünü sağlayarak, migrasyon, büyüme ve farklılaşmanın kontrolünde rol oynar. E-cad, hücre dışı, zar ötesi ve hücre içi bir bileşenlere sahiptir. Normal olarak, epitel hücrelerinin hücre dışı bölgeleri, alfa-katenin ile bağlanan, kaderin-katenin kompleksini aktin ile bağlayan sitoplazmik protein kateninleri (beta ve gama-katenin) ile güçlü bağlantılar ve sitoplazmik bileşenler oluştururlar. Hücre iskeletinin E-cadherinin p53 aktivitesinin düzenlenmesinde rol oynadığı varsayılmaktadır, bu gibi regülasyonlar da hücre döngüsü ve apoptoz süreçlerini etkileyebilir (Volkova, Pashov ve Omelchuk, 2021). Kadherinlerin anormal ekspresyonu, tümör invazyonu ve metastazda da gösterilmiştir. Bu ekspresyon profillerinin serviks kanserinin progresyonunda ve karsinogenezindeki roller halen araştırılmaktadır. CIN aşamasından serviksin skuamöz hücreli karsinomuna kadar olan süreçlerde E-cad ekspresyonunda kademeli bir azalma ve P-cad'de bir artış olduğu, kaderin ekspresyonunun veya EP'nin değişmesinin kötü prognozu gösteren bazı klinik parametreler ile ilişkili olduğu bulunmuştur. E-cad ve P-cad'in saptanması için sağkalım ve immünohistokimyasal boyama, serviks kanserinin erken evrelerinde CIN tanısında ve hastalık prognozunda faydalı olabileceği tespit edilmiştir (Cancer Genome Atlas Research ve diğerleri, 2017; Volkova, Pashov ve Omelchuk, 2021). Ayrıca ADAM9 proteazının (ADAM ailesi) hücre yapışması, göçü ve sinyalleşme süreçlerine katıldığı da bulunmuştur. ADAM9 aşırı ekspresyonu, prostat, böbrek, pankreas, akciğer ve mide kanseri gibi birçok solid tümörde çalışmıştır. Disintegrin metalloproteinazları ADAM9, ADAM12 ve ADAM15

mide kanserinde aktive olduğu bildirilmiştir (Kato, Hasegawa, Torii, Udagawa ve Fukasawa, 2015). Normal epitelde, CIN3 lezyonlarda ve servikal skuamöz hücreli karsinomda ADAM9 proteaz ekspresyonunun immünohistokimyasal değerlendirmesi, normal servikal epitelde, ADAM9'un zayıf sitoplazmik ekspresyonu ve membran boyanması olduğunu göstermiştir. ADAM9'un belirgin ekspresyonu, CIN3 odaklarında ve daha büyük ölçüde servikal skuamöz hücreli karsinomda gözlenmektedir. Bu nedenle ADAM9 ekspresyonu servikal skuamöz epitelde düşük, CIN3 odaklarında ve servikal skuamöz hücreli karsinom dokusunda artmış bulunmuştur. ADAM9'un serviks kanserinde tanısallık ve prognostik değerini belirlemek için daha ileri çalışmaları da yapılmaktadır (Zubel, Flechtenmacher, Edler ve Alonso, 2009). Tümör hücresinin istilası ve metastazı, matris metalloproteinazların ve bunların inhibitörlerinin dahil olduğu hücre dışı matris bozunma süreçleri ile ilişkili bulunmuştur. Matris metalloproteinazlar (MMP'ler), hücre dışı matrisi ve bazal membranı parçalayabilen ve birkaç önemli düzenleyici işlevi yerine getirebilen bir enzim ailesidir. Normalde dokularda az miktarda MMP vardır, ana MMP'ler salgılanan enzimlerdir ve altı MMP membrana bağlı MMP-MT-MMP oluşturur (Solovyeva; Timoshenko, Gureeva, Kugaevskaia ve Solov'eva, 2014). MMP aktivasyonu, istila ve metastazı destekleyen hücreler arası materyalin proteolize ve bozulmasına yol açar. Normalde bu süreç, TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 ve TIMP-4 gibi metalloproteinazların (TIMP'ler) doku inhibitörleri tarafından kontrol edilir. Birçok tümörde MMP düzeylerinde lokalize bir artış vardır (Babichenko I.I.; Timoshenko, Gureeva, Kugaevskaia ve Solov'eva, 2014). Doku kollajenazları (MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-14) ve jelatinaz (MMP-2, MMP-9) invazyon ve metastaz süreçlerinde önemli bir rol oynar (Li ve diğerleri, 2016). Kollajenazlar fibriller kollajen tip I, II, III, V ve IX'u hidrolize eder. İkincisi, proteolitik enzimlerin etkisine dirençlidir ve hidroliz ürünleri, çok çeşitli proteinazlara maruz kalabilir. Bu nedenle, MMP'ler, interstisyel dokuda yıkıcı süreçlerin gelişmesini sağlar, jelatinazlar, bazal membranların temeli olan tip IV kollajenin hidrolizinde yer alır (Li ve diğerleri, 2016). Doku MMP inhibitörleri seçicilik ile karakterize edilir. Bununla birlikte, MMP ailesinin tüm

üyelerinin aktivitesini inhibe edebilirler. Kanda bulunan A2-makroglobulin ana MMP inhibitörüdür. Pro-MMP'lerin ana aktivatörleri serin proteazları içerir; Golgi kompleksindeki pro-MMP'leri aktive eden plazmin (salgılanan MMP'ler için) ve furin (zara bağlı MMP'ler için, MMP-14'ü içerirler. Skuamöz serviks kanseri doku örneklerinin incelenmesinde, MT1-MMP membranla ilişkili interstisyel kollajenaz ekspresyonunun arttığı ve furin aktivitesinin endojen bir aktivatörünün olduğu gösterilmiştir. Tümörün invaziv potansiyeline büyük katkı sağlayan MT1-MMP TIMP-2 doku inhibitörünün düşük ekspresyonu olduğu bulunmuştur. MT1-MMP ekspresyonu, tümöre bitişik morfolojik olarak normal dokuda gözlenmiştir (Zhou, Li, Zhang ve Hu, 2017). HPV16 ile ilişkili servikal kanser tümör örneklerinde MMP'lerin ve bunların endojen düzenleyicilerinin ekspresyonu, tümörün invaziv ve metastatik potansiyelinin, kollajenaz MMP-1, MT1-MMP ve jelatinazın artan ekspresyonu tarafından açıkça belirlendiğini göstermiştir (Li ve diğerleri, 2016). Serviks skuamöz hücreli karsinomlu hastalarda histerektomi sırasında elde edilen rahim dokusu üzerinde yapılan bir çalışmada, matris metalloproteinaz MT1-MMP (MMP-14), onun doku inhibitörü TIMP-2 ve aktivatörü proMMP-14 furin'in ekspresyonu araştırılmıştır (Cancer Genome Atlas Research ve diğerleri, 2017). MMP-14'ün immünohistokimyasal ekspresyonunun servikal kanser dokusunda büyük ölçüde arttığı, normal endometriyal ve miyometriyal dokularda ise ekspresyonu olmadığı veya önemsiz olduğu bulunmuş, tümördeki furin aktivitesinin de sağlıklı dokulardan önemli ölçüde daha yüksek ekspresyon seviyesine sahip olduğu tespit edilmiştir. TIMP-2 ekspresyona ise tümör ve sağlıklı normal dokularda fark rastlanmamıştır. Servikal skuamöz hücreli karsinomda MMP-14 ve aktivite düzenleyicilerinin ekspresyonunun, tümörün perisellüler boşluktaki invaziv potansiyelini arttırmayı amaçladığını ve morfolojik olarak normal uterus dokularında meydana gelebileceğini bulunmuştur (Cancer Genome Atlas Research ve diğerleri, 2017).

4.6 Servikal Karsinogenezde Anjiyogenez Belirteçleri

Malign tümörlerde neoanjiyogenez ve lenfanjiyogenez süreçleri büyüme, invazyon ve metastaz ile ilişkilidir. Neoanjiyogenez sırasında, esas olarak tümöre bitişik dokularda küçük damarları kaplayan endotelial hücrelerden bir kılcal damar ağı oluşur. Tümör çevresinde oluşan kapiller ağ, morfoloji, yoğunluk ve damar geçirgenliği açısından anormal olarak tespit edilmiştir (Van Zummeren ve diğerleri, 2018). Anjiyogenez, prognostik ve prediktif olan anjiyogenik faktörler tarafından uyarılır, bunların başlıcaları vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), anjiyogenin, dönüştürücü büyüme faktörü- α (TGF- α)'dır. VEGF, endotel hücre proliferasyonunu uyaran ve vasküler geçirgenliği artıran ve ayrıca dolaylı olarak lenfanjiyogenezini etkileyen neoanjiyogenezde önemli bir araçtır. VEGF, antianjiyogenik antikanser ilaçların geliştirilmesinde önemli bir terapötik hedeftir (Belfort-Mattos ve diğerleri, 2016; Han ve diğerleri, 2017). Tümörlerde anjiyogenezini değerlendirmek için endotel hücre belirteçleri için faktör VIII, CD31, CD34 kullanılmaktadır. Farklı CIN sınıflması olan VEGF ve podoplanin (PDPN) antikörlerine sahip 234 servikal doku örneği üzerinde yapılan bir immünohistokimyasal çalışma da, VEGF ekspresyonunun HSIL örneklerinde LSIL'e kıyasla önemli ölçüde yüksek olduğunu bildirilmiştir. VEGF ve PDPN'nin aynı anda değerlendirilmesi sonucunda anjiyogenez açısından daha fazla bilgi sağlayabileceği bildirilmiştir (Kelly ve diğerleri, 2019). VEGFR2 ekspresyonu, serviks kanseri gelişiminde prognostik bir faktör olarak tanımlanmış, ancak farklı biyobelirteçler arasındaki ilişkileri değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (Cancer Genome Atlas Research ve diğerleri, 2017). Serviks kanserli hastalarda vimentin, p53 ve podoplanin miktarları değerlendirildiğinde, karsinom dokusunda vimentin, p53 ve podoplaninin mRNA ekspresyon seviyesinin komşu normal servikal dokulara göre anlamlı derecede arttığı bulunmuştur. Vimentin, p53 ve podoplaninin ekspresyonunun, serviks kanseri hastalarının sağkalım ile ilişkili olduğu ve serviks kanseri teşhisi ve tedavisi için değerli biyobelirteçler olarak fonksiyonel rollerini ortaya çıkarılmasına ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir (Yeo-Teh, Ito ve Jha, 2018).

5. SONUÇ VE ÖNERİ

Servikal karsinogenezin evreleri ile ilgili araştırmalar başlangıçta patomorfolojik değişikliklere göre yapılıyordu. Genomik tarama sistemlerinin kullanımı arttıka, serviks kanseri gelişiminin farklı aşamalarındaki moleküler bozukluklar tespit edilmiştir. Serviks karsinogenez süreci için elimizde farklı teoriler ve çok sayıda literatür bilgisi olmasına rağmen, spesifik bir fenotip ile karakterize edilen tümörlerde hedefe yönelik tedavileri belirleyecek biyobelirteçlerin varlığına yönelik tanısal yaklaşımların ve yeni tedavilerin geliştirilmesine ihtiyaç olduğunu bildirmektedir. (Murali, Grisham ve Soslow, 2018). P16 ve Ki-67 gibi bilinen biyobelirteçler kullanılarak servikal neoplazilerin tanımlanması amacıyla farklı ülkelerdeki modern tarama çalışmalarının önemi vurgulanmaktadır. (Hammer ve diğerleri, 2020; Peeters, Wentzensen, Bergeron ve Arbyn, 2019). Servikal karsinogenezin farklı aşamalarını incelemek prognostik ve prediktif faktörleri belirlemek amacıyla, p53 ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2'nin protein seviyeleri incelenmekte ve kötü prognozla ilişkili potansiyel prognostik faktörler olarak değerlendirilmektedir (Chaiwongkot ve diğerleri, 2013). PI3K/Akt, Wnt/ β -katenin, ERK/MAPK, NF- κ B, YY1, AP-1, JAK/STAT ve CXCL12/CXCR4 sinyal yollarının HPV ile enfekte kişilerde servikal karsinogenezde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur (Lopez, Valdez-Morales, Benitez-Bribiesca, Cerbon ve Carranca, 2013). Modern araştırma teknikleri ile servikal karsinogenezde genetik, epigenetik değişikliklerin tanımlanması, uzun kodlamayan RNA'ların ve dairesel RNA'ların olası rollerinin de ortaya çıkarılması amaçlanmaktadır (Ding ve diğerleri, 2020; Halle ve diğerleri, 2021; Wang ve diğerleri, 2018). Serviks kanserinin progresyonu, prognozu ve tedavisi ile ilgili elimizdeki bilgiler servikal karsinogenez ile ilişkili bize kesin sonuçlar sunmamaktadır. Servikal kanser alanındaki gelişmeler ile birlikte yeni verilerin elde edilmesi ve modern multidisipliner yaklaşımların yardımıyla servikal neoplazilerin ayırıcı tanısında, tedavisinde ve etkili yeni biyobelirteçlerin gelecekte de araştırılması beklenmektedir.

KAYNAKÇA

- Babichenko I.I., Kovyazin V.A. New Methods of Immunohistochemical Diagnostics of Tumor Growth. M: RUDN. 2008. [(accessed on 15 May 2021)].
- Balasubramaniam, S. D., Balakrishnan, V., Oon, C. E.ve Kaur, G. (2019). Key Molecular Events in Cervical Cancer Development. *Medicina-Lithuania*, 55(7).
- (2019). Key Molecular Events in Cervical Cancer Development. *Medicina (Kaunas)*, 55(7).
- Belfort-Mattos, P. N., Focchi, G. R., Ribalta, J. C., Megale De Lima, T., Nogueira Carvalho, C. R., Kesselring Tso, F.ve De Gois Speck, N. M. (2016). Immunohistochemical Expression of VEGF and Podoplanin in Uterine Cervical Squamous Intraepithelial Lesions. *Dis Markers*, 2016, 8293196.
- Bhattacharjee, B.ve Sengupta, S. (2006). CpG methylation of HPV 16 LCR at E2 binding site proximal to P97 is associated with cervical cancer in presence of intact E2. *Virology*, 354(2), 280-5.
- Bonelli, P., Borrelli, A., Tuccillo, F. M., Buonaguro, F. M.ve Tornesello, M. L. (2021). The Role of circRNAs in Human Papillomavirus (HPV)-Associated Cancers. *Cancers (Basel)*, 13(5).
- Bosse, T., Lax, S., Abu-Rustum, N.ve Matias-Guiu, X. (2021). The Role of Predictive Biomarkers in Endocervical Adenocarcinoma: Recommendations From the International Society of Gynecological Pathologists. *Int J Gynecol Pathol*, 40(Suppl 1), S102-S110.
- Cancer Genome Atlas Research, Network, Albert Einstein College Of, Medicine, Analytical Biological, Services, Barretos Cancer, Hospital, Baylor College Of, Medicine, Beckman Research Institute of City Of, Hope, Buck Institute for Research On, Aging, Canada's Michael Smith Genome Sciences, Centre, Harvard Medical, School, Helen, F. Graham Cancer Center, Research Institute at Christiana Care Health, Services,

Hudsonalpha Institute For, Biotechnology, Ilsbio, L. L. C., Indiana University School Of, Medicine, Institute of Human, Virology, Institute for Systems, Biology, International Genomics, Consortium, Leidos, Biomedical, Massachusetts General, Hospital, Mcdonnell Genome Institute at Washington, University, Medical College Of, Wisconsin, Medical University of South, Carolina, Memorial Sloan Kettering Cancer, Center, Montefiore Medical, Center, Nantomics, National Cancer, Institute, National Hospital, Abuja Nigeria, National Human Genome Research, Institute, National Institute of Environmental Health, Sciences, National Institute On, Deafness, Other Communication, Disorders, Ontario Tumour Bank, London Health Sciences Centre, Ontario Tumour Bank, Ontario Institute for Cancer Research, Ontario Tumour Bank, The Ottawa Hospital, Oregon, Health, Science, University, Samuel Oschin Comprehensive Cancer Institute, Cedars-Sinai Medical Center, International, S. R. A., St Joseph's Candler Health, System, Eli, Edythe, L. Broad Institute of Massachusetts Institute of Technology, Harvard, University, Research Institute at Nationwide Children's, Hospital, Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center at Johns Hopkins, University, University Of, Bergen, University of Texas, M. D. Anderson Cancer Center, University of Abuja Teaching, Hospital, University of Alabama At, Birmingham, University of California, Irvine, University of California Santa, Cruz, University of Kansas Medical, Center, University Of, Lausanne, University of New Mexico Health Sciences, Center, University of North Carolina at Chapel, Hill, University of Oklahoma Health Sciences, Center, University Of, Pittsburgh, University of Sao Paulo, Ribeir ao Preto Medical School, University of Southern, California, University Of, Washington, University of Wisconsin School Of, Medicine, Public, Health, Van Andel Research, Instituteve Washington University in St, Louis. (2017). Integrated genomic and molecular characterization of cervical cancer. *Nature*, 543(7645), 378-384.

- Chaiwongkot, A., Vinokurova, S., Pientong, C., Ekalaksananan, T., Kongyingyoes, B., Kleebkaow, P., Chumworathayi, B., Patarapadungkit, N., Reuschenbach, M.ve Von Knebel Doeberitz, M. (2013). Differential methylation of E2 binding sites in episomal and integrated HPV 16 genomes in preinvasive and invasive cervical lesions. *Int J Cancer*, *132*(9), 2087-94.
- Charakorn, C., Thadanipon, K., Chaijindaratana, S., Rattanasiri, S., Numthavaj, P.ve Thakkinstian, A. (2018). The association between serum squamous cell carcinoma antigen and recurrence and survival of patients with cervical squamous cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Gynecol Oncol*, *150*(1), 190-200.
- Chen, C. C., Huang, L. W., Bai, C. H.ve Lee, C. C. (2016). Predictive value of p16/Ki-67 immunocytochemistry for triage of women with abnormal Papanicolaou test in cervical cancer screening: a systematic review and meta-analysis. *Ann Saudi Med*, *36*(4), 245-51.
- Di Domenico M., Giovane G., Kouidhi S., Iorio R., Romano M., De Francesco F., Feola A., Siciliano C., Califano L., Giordano A. HPV epigenetic mechanisms related to oropharyngeal and cervix cancers. *Cancer Biol. Ther.* 2018;*19*:850–857. doi: 10.1080/15384047.2017.1310349.
- Ding, H., Xiong, X. X., Fan, G. L., Yi, Y. X., Chen, Y. R., Wang, J. T.ve Zhang, W. (2020). The New Biomarker for Cervical Squamous Cell Carcinoma and Endocervical Adenocarcinoma (CESC) Based on Public Database Mining. *Biomed Res Int*, *2020*, 5478574.
- Halle, M. K., Sundaresan, A., Zhang, J., Pedamallu, C. S., Srinivasasainagendra, V., Blair, J., Brooke, D., Bertelsen, B. I., Woie, K., Shrestha, S., Tiwari, H., Wong, Y. F., Krakstad, C.ve Ojesina, A. I. (2021). Genomic alterations associated with mutational signatures, DNA damage repair and chromatin remodeling pathways in cervical carcinoma. *NPJ Genom Med*, *6*(1), 82.

- Hammer, A., Gustafson, L. W., Christensen, P. N., Brondum, R., Andersen, B., Andersen, R. H.ve Tranberg, M. (2020). Implementation of p16/Ki67 dual stain cytology in a Danish routine screening laboratory: Importance of adequate training and experience. *Cancer Med*, 9(21), 8235-8242.
- Han, Y. D., Wang, X. B., Cui, N. H., Zhang, S., Wang, C.ve Zheng, F. (2017). Associations of P16INK4a promoter hypermethylation with squamous intra-epithelial lesion, cervical cancer and their clinicopathological features: a meta-analysis. *Oncotarget*, 8(1), 1871-1883.
- Hwang, S. J.ve Shroyer, K. R. (2012). Biomarkers of cervical dysplasia and carcinoma. *J Oncol*, 2012, 507286.
- Kato, R., Hasegawa, K., Torii, Y., Udagawa, Y.ve Fukasawa, I. (2015). Factors affecting platinum sensitivity in cervical cancer. *Oncol Lett*, 10(6), 3591-3598.
- Kelly, H., Benavente, Y., Pavon, M. A., De Sanjose, S., Mayaud, P.ve Lorincz, A. T. (2019). Performance of DNA methylation assays for detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN2+): a systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer*, 121(11), 954-965.
- Kilic, S., Cracchiolo, B., Gabel, M., Haffty, B.ve Mahmoud, O. (2015). The relevance of molecular biomarkers in cervical cancer patients treated with radiotherapy. *Ann Transl Med*, 3(18), 261.
- Koeneman, M. M., Ovestad, I. T., Janssen, E. A. M., Ummelen, M., Kruitwagen, Rfpm, Hopman, A. H.ve Kruse, A. J. (2019). Gain of Chromosomal Region 3q26 as a Prognostic Biomarker for High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia: Literature Overview and Pilot Study. *Pathol Oncol Res*, 25(2), 549-557.
- Korolenkova, L. I.ve Ermilova, V. D. (2011). [The role of cervical transformational zone as an object of human papilloma virus oncogenic effect in cervical intraepithelial neoplasms and invasive cancer development]. *Ark Patol*, 73(6), 33-7.
- Lee, H., Lee, H.ve Cho, Y. K. (2017). Cytokeratin7 and cytokeratin19 expression in high grade cervical intraepithelial neoplasm and

- squamous cell carcinoma and their possible association in cervical carcinogenesis. *Diagn Pathol*, 12(1), 18.
- Lee, S., Rose, M. S., Sahasrabudhe, V. V., Zhao, R.ve Duggan, M. A. (2017). Tissue-based Immunohistochemical Biomarker Accuracy in the Diagnosis of Malignant Glandular Lesions of the Uterine Cervix: A Systematic Review of the Literature and Meta-Analysis. *Int J Gynecol Pathol*, 36(4), 310-322.
- Li, B., Shi, H., Wang, F., Hong, D., Lv, W., Xie, X.ve Cheng, X. (2016). Expression of E-, P- and N-Cadherin and Its Clinical Significance in Cervical Squamous Cell Carcinoma and Precancerous Lesions. *PLoS One*, 11(5), e0155910.
- Lopez, J., Valdez-Morales, F. J., Benitez-Bribiesca, L., Cerbon, M.ve Carranca, A. G. (2013). Normal and cancer stem cells of the human female reproductive system. *Reprod Biol Endocrinol*, 11, 53.
- Ludmir, J.ve Sehdev, H. M. (2000). Anatomy and physiology of the uterine cervix. *Clin Obstet Gynecol*, 43(3), 433-9.
- Mega Tiber, P., Baloglu, L., Ozden, S., Ozgen, Z., Ozyurt, H., Eren, M.ve Orun, O. (2014). The association of apoptotic protein expressions sensitive to apoptosis gene, p73 and p53 with the prognosis of cervical carcinoma. *Onco Targets Ther*, 7, 2161-8.
- Mitildzans, A., Arechvo, A., Rezeberga, D.ve Isajevs, S. (2017). Expression of p63, p53 and Ki-67 in Patients with Cervical Intraepithelial Neoplasia. *Turk Patoloji Derg*, 33(1), 9-16.
- Murali, R., Grisham, R. N.ve Soslow, R. A. (2018). The roles of pathology in targeted therapy of women with gynecologic cancers. *Gynecol Oncol*, 148(1), 213-221.
- Nakamura, M., Obata, T., Daikoku, T.ve Fujiwara, H. (2019). The Association and Significance of p53 in Gynecologic Cancers: The Potential of Targeted Therapy. *Int J Mol Sci*, 20(21).
- Pan, D., Wei, K., Ling, Y., Su, S., Zhu, M.ve Chen, G. (2015). The prognostic role of Ki-67/MIB-1 in cervical cancer: a systematic review with meta-analysis. *Med Sci Monit*, 21, 882-9.
- Paquette, C., Mills, A. M.ve Stoler, M. H. (2016). Predictive Value of Cytokeratin 7 Immunohistochemistry in Cervical Low-grade

- Squamous Intraepithelial Lesion as a Marker for Risk of Progression to a High-grade Lesion. *Am J Surg Pathol*, 40(2), 236-43.
- Park, K. J., Cabrero, I. A., Fadare, O., Hoang, L., Kiyokawa, T., Oliva, E., Parra-Herran, C., Rabban, J. T., Roma, A., Singh, N., Soslow, R., Stolnicu, S., Huvila, J., Leung, S.ve Gilks, C. B. (2021). Online Training and Self-assessment in the Histopathologic Classification of Endocervical Adenocarcinoma and Diagnosis of Pattern of Invasion: Evaluation of Participant Performance. *Int J Gynecol Pathol*, 40(Suppl 1), S14-S23.
- Peeters, E., Wentzensen, N., Bergeron, C.ve Arbyn, M. (2019). Meta-analysis of the accuracy of p16 or p16/Ki-67 immunocytochemistry versus HPV testing for the detection of CIN2+/CIN3+ in triage of women with minor abnormal cytology. *Cancer Cytopathol*, 127(3), 169-180.
- Peres, A. L., Paz, E. Silva K. M., De Araujo, R. F., De Lima Filho, J. L., De Melo Junior, M. R., Martins, D. B.ve De Pontes Filho, N. T. (2016). Immunocytochemical study of TOP2A and Ki-67 in cervical smears from women under routine gynecological care. *J Biomed Sci*, 23(1), 42.
- Randall, L. M., Monk, B. J., Darcy, K. M., Tian, C., Burger, R. A., Liao, S. Y., Peters, W. A., Stock, R. J.ve Fruehauf, J. P. (2009). Markers of angiogenesis in high-risk, early-stage cervical cancer: A Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol*, 112(3), 583-9.
- Rogovskaya, S.I. (2016). *Esthetic Correction: A Guide for Practicing Physicians; Human papillomavirus infection of the genitals. In Cervix, Vagina, Vulva. Physiology, Pathology, Colposcopy* (2 ed. Vol. 2).
- Sen, P., Ganguly, P.ve Ganguly, N. (2018). Modulation of DNA methylation by human papillomavirus E6 and E7 oncoproteins in cervical cancer. *Oncol Lett*, 15(1), 11-22.
- Shukla, S., Dass, J.ve Pujani, M. (2014). p53 and bcl2 expression in malignant and premalignant lesions of uterine cervix and their

- correlation with human papilloma virus 16 and 18. *South Asian J Cancer*, 3(1), 48-53.
- Solovyeva, N.; Timoshenko, O.; Gureeva, T.; Kugaevskaya, E.V. Matrix metalloproteinases and their endogenous regulators in squamous cervical carcinoma (review of the own data). *Biomeditsinskaya Khimiya* 2015, 61, 694–704.
- Tanaka, T. I.ve Alawi, F. (2018). Human Papillomavirus and Oropharyngeal Cancer. *Dent Clin North Am*, 62(1), 111-120.
- Timoshenko, O. S., Gureeva, T. A., Kugaevskaia, E. V.ve Solov'eva, N. I. (2014). [Membrane type 1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) and the regulators of its activity as invasive factors in squamous cell cervical carcinomas]. *Biomed Khim*, 60(6), 683-8.
- Tornesello, M. L., Buonaguro, L., Giorgi-Rossi, P.ve Buonaguro, F. M. (2013). Viral and cellular biomarkers in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia and cancer. *Biomed Res Int*, 2013, 519619.
- Tornesello, M. L., Faraonio, R., Buonaguro, L., Annunziata, C., Starita, N., Cerasuolo, A., Pezzuto, F., Tornesello, A. L.ve Buonaguro, F. M. (2020). The Role of microRNAs, Long Non-coding RNAs, and Circular RNAs in Cervical Cancer. *Front Oncol*, 10, 150.
- Tran, A. M., Chalbatani, G. M., Berland, L., Cruz De Los Santos, M., Raj, P., Jalali, S. A., Gharagouzloo, E., Ivan, C., Dragomir, M. P.ve Calin, G. A. (2020). A New World of Biomarkers and Therapeutics for Female Reproductive System and Breast Cancers: Circular RNAs. *Front Cell Dev Biol*, 8, 50.
- Van Zummeren, M., Leeman, A., Kremer, W. W., Bleeker, M. C. G., Jenkins, D., Van De Sandt, M., Heideman, D. A. M., Steenbergen, R., Snijders, P. J. F., Quint, W. G. V., Berkhof, J.ve Meijer, Cjlm. (2018). Three-tiered score for Ki-67 and p16(ink4a) improves accuracy and reproducibility of grading CIN lesions. *J Clin Pathol*, 71(11), 981-988.
- Volkova, L. V., Pashov, A. I.ve Omelchuk, N. N. (2021). Cervical Carcinoma: Oncobiology and Biomarkers. *Int J Mol Sci*, 22(22).

- Wang, A., Xu, Q., Sha, R., Bao, T., Xi, X.ve Guo, G. (2021). MicroRNA-29a inhibits cell proliferation and arrests cell cycle by modulating p16 methylation in cervical cancer. *Oncol Lett*, 21(4), 272.
- Wang, X. B., Cui, N. H., Liu, X. N., Ma, J. F., Zhu, Q. H., Guo, S. R., Zhao, J. W.ve Ming, L. (2018). Identification of DAPK1 Promoter Hypermethylation as a Biomarker for Intra-Epithelial Lesion and Cervical Cancer: A Meta-Analysis of Published Studies, TCGA, and GEO Datasets. *Front Genet*, 9, 258.
- Wasson, C. W., Morgan, E. L., Muller, M., Ross, R. L., Hartley, M., Roberts, S.ve Macdonald, A. (2017). Human papillomavirus type 18 E5 oncogene supports cell cycle progression and impairs epithelial differentiation by modulating growth factor receptor signalling during the virus life cycle. *Oncotarget*, 8(61), 103581-103600.
- Yeo-Teh, N. S. L., Ito, Y.ve Jha, S. (2018). High-Risk Human Papillomaviral Oncogenes E6 and E7 Target Key Cellular Pathways to Achieve Oncogenesis. *Int J Mol Sci*, 19(6).
- Zhou, Z., Li, W., Zhang, F.ve Hu, K. (2017). The value of squamous cell carcinoma antigen (SCCa) to determine the lymph nodal metastasis in cervical cancer: A meta-analysis and literature review. *PLoS One*, 12(12), e0186165.
- Zubel, A., Flechtenmacher, C., Edler, L.ve Alonso, A. (2009). Expression of ADAM9 in CIN3 lesions and squamous cell carcinomas of the cervix. *Gynecol Oncol*, 114(2), 332-6.

BÖLÜM 5

D-DİMER'İN BİYOBELİRTEÇ OLARAK KULLANILMASI

Doç. Dr. Betül APAYDIN YILDIRIM¹

¹ Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya AD, Erzurum, TÜRKİYE, betul_apaydin@hotmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0361-6148>

GİRİŞ

D-dimerler, trombotik bozukluklar için biyobelirteç olarak kullanılan fibrinolizin yan ürünüdür. Artan trombolitik aktivite ile ilişkili olarak analizleri klinik çalışmalar için bütünleyici rol oynayan, yaygın damar içi pıhtılaşmalarında ve venöz tromboembolizm gibi klinik bozukluklarda önemlidir. Koroner ve karotis arter aterosklerozu ve aort hastalıklarında önemli bir biyobelirteçtir. D-dimerler invaziv olmayan ve hızlı bir teşhis aracı olarak kullanılmaktadır (Soomro ve ark., 2016).

Geleceğin koruyucu kardiyojoloji yönünde yönlendiğiyle birlikte, klinisyenlerin bozuklukları teşhis etmek için biyobelirteçleri nasıl etkili bir şekilde kullanacaklarını anlamaları zorunludur. Bu bağlamda, D-dimer'in kökenini, mevcut klinik faydasını ve gelecekteki potansiyel uygulamalarını gözden geçirmemiz gerekmektedir.

D-dimer değeri 0.5 µg/mL'den düşük olması genellikle normal kabul edilir. Yaşın artmasıyla beraber ve hamilelik döneminde düzeylerinde artışlar tespit edilmiştir. 2019 COVID-19 pandemisinde önce, D-dimerin, bakteriyel veya viral pnömoni için biyobelirteç olarak kabul edilmemiştir, COVID-19 pandemisi ile birlikte D-dimer, COVID-19 hastalık şiddetini değerlendirme konusunda öneme sahiptir (Querol-Ribelles ve ark., 2004; Zhang ve ark., 2020; Soni ve ark., 2020).

COVID-19 hastalarının %3.75-68.0'ında koagülopatiyeye bağlı D-dimer artışı tespit edilmiştir Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ve pnemoni hastalarında şiddetli vakalarda D-dimer düzeyinin daha yüksek ve D-dimer > 1 µg/mL olmasının COVID-19'lu erişkin yatan hastalarda mortalite için yüksek risk teşkil ettiği bildirilmiştir (Zhou ve ark., 2020).

Fibrin üretimini veya yıkımını artıran arteriyel tromboz, travma sonrası, ameliyat, kanser, hamilelik, kronik karaciğer hastalıkları, iltihaplanma, vaskülit, ven trombozu/pulmoner emboli ve derin, yaygın damar içi pıhtılaşma gibi patolojik veya patolojik olmayan durumlar plazma D-dimer düzeylerini arttırabilir (Lippi ve ark., 2014; Linkins ve Takach Lapner, 2017). SARS-CoV-2 ile enfekte hastalarda D-dimer seviyelerinin yaygın olarak yükseldiği kritik hastalığı olan kişilerde

daha yüksek seviyelerde olduğu ve hastane mortalitesi için prognoz açısından önemli bir belirteç olduğu görülmektedir (Yao ve ark., 2020)

Sepsis yaşamı tehdit eden, enfeksiyona karşı düzensiz konak yanıtının neden olduğu organ disfonksiyonuna neden olan heterojen bir sendromdur. Mevcut hiçbir klinik önlem düzensiz yanıt kavramını yeterince yansıtmamaktadır. Pıhtılaşma, patojenlere (immünotromboz) normal yanıtta çok önemli bir rol oynar, bu nedenle sepsis kaynaklı koagülopatiyeye doğru evrim, pıhtılaşma/fibrinoliz ile ilgili biyobelirteçler yoluyla bireysel olabilir. Pıhtılaşmanın patojenlere karşı fizyolojik konak yanıtında çok önemli bir rol oynadığı birkaç yıldır bilinmektedir. İmmun hücreler ve spesifik trombozla ilgili moleküllerin aracılık ettiği immünotromboz, tanımayı, tutmayı kolaylaştıran lokalize bir intravasküler yapı iskelesinin oluşumuna yol açar ve patojenlerin öldürülmesi, dolaşım sistemi yoluyla yayılmalarının sınırlandırılması, böylece konakçı bütünlüğünün korunması ve büyük organ hasarlarının sınırlandırılması (Soni ve ark., 2020): yaygın damar içi pıhtılaşmada (DIC) pıhtılaşmanın fizyolojik olarak aktivasyonunun kaybı sepsis ve invaziv enfeksiyonların ayırıcı özelliklerini oluşturur (Soni ve ark., 2020). Genel olarak, sistemik bir enfeksiyon sırasında dış etkenler ve temas sırasında monositler ve hücre dışı mikropartiküller (MP'ler) yüzeylerinde eksprese edilen intravasküler doku faktörü (TF) tarafından tetiklenmesi ve hücreden bağımsız DNA ile ilişkili nötrofil hücre dışı tuzakları (NET'ler) ve çeşitli hücre zarlarında bulunan fosfatidilserin kalıntıları nedeniyle pıhtılaşma yolları aktif olur (Soni ve ark., 2020). Sepsis ile ilişkili koagülopatide, eşzamanlı pıhtılaşma aktivasyonu, fizyolojik antikoagulanların aşağı regülasyonu ve fibrinolizin inhibisyonu ile karakterize edilerek sonunda D-dimer gibi değişken miktarda fibrin ile ilgili belirteçlerin üretilmesine yol açar (Engelmann ve Massberg, 2013; Seymour ve ark., 2019). D-dimer seviyelerinin sepsisli hastalarda düşük olması yaşam düzeyinin azalması ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, D-dimer, sepsis sırasında meydana gelen pro- ve anti-trombotik ve pro- ve anti-fibrinolitik tahrik arasındaki karmaşık dengenin sentezini yansıtabilen, farklı enfeksiyon modellerinde prognozu tahmin etmede ilginç bir biyobelirteç gibi görünmektedir (Engelmann ve Massberg, 2013). Farklı patojenlere

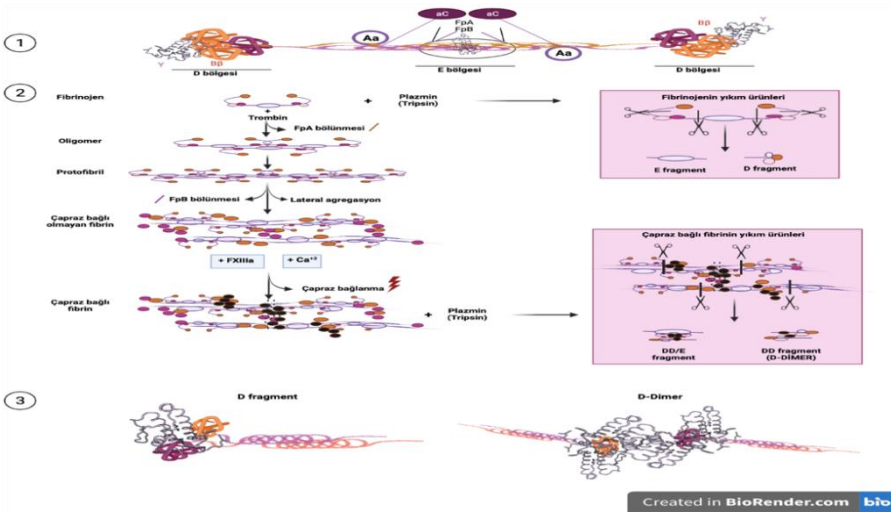
bağlı olarak ciddi invaziv enfeksiyonlar veya sepsis sırasında ortaya çıkan koagülopatinin kapsamını veya tipini karakterize etmek için pıhtılaşma biyobelirteçleri kullanılmaktadır.

Aslında, trombin-antitrombin kompleksi, PAI-1 ve D-dimer, sepsisin klinik fenotiplerinin tanımlanması için potansiyel biyobelirteçler olarak kullanılmaktadır ve belirgin yüksek ölüm oranı ve organ disfonksiyonu paterni ile karakterize edilen δ fenotipi ile önemli ölçüde ilişkilendirilmektedir (Seymour ve ark., 2019); bundan sonra, anti-inflamatuar, anti-pıhtılaştırıcı veya immünomodülatör stratejilerden yararlanma olasılığı en yüksek olan hastaların belirlenmesinde bu tür biyobelirteçler faydalı olabilir (Dhainaut ve ark., 2004). Meini ve ark., *S. pneumoniae* hastalarına göre *N. meningitidis*'te median D-dimer düzeylerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (Meini ve ark., 2021).

D-Dimer'in Tanımı ve Yapısı

Çapraz bağlı D-dimerler, çözünmeyen fibrin moleküllerinin bölünmesinden türetilen yan yapısal olarak her molekül, iki disülfid bağı ile bir arada tutulan alfa, beta ve gama olarak adlandırılan üç polipeptit zincirinden oluşan bir dimerdir. Her dimer diğer yarısına üç tane disülfid bağı ile tutunmaktadır (Hoeprich ve Doolittle, 1983).

Endovasküler tromboz durumunda plazmin çapraz bağlı çözünmeyen fibrin monomerlerini bölerek fibrin bozunma ürünleri (FDP'ler) oluşur (Gaffney ve Joe, 1979). Kan örneklerinde bulunan D-dimer, E-fragmanlarına kovalent olmayan bir şekilde bağlanarak stabil bir D-dimer/E-kompleksi oluşturur (Şekil 1). Serum D-dimer antijenini saptamak için, D-dimer molekülü üzerindeki spesifik epitoplarla reaksiyona giren antikörleri baz alan analizler geliştirilmiştir. Bu epitoplar, faktör XIII'in fibrin polimerlerinin çapraz bağlantısının bir sonucu olarak üretilir ve diğer FDP'ler üzerinde bulunmaz. Bu nedenle ticari olarak farklı antikörler kullanılarak D-dimer testleri üretilmektedir. Ticari kitler farklı antikörler kullandığından D-dimer testleri tek tip değildir (Dempfle, 2005; Dempfle ve ark., 2001).



Şekil 1. Fibrinin Oluşumu ve D-dimer Yapısı.

Plazma D-dimer Düzeyinin Yükseldiği Durumlar

D-dimer intravasküler trombüs oluşumundan itibaren 2 saat içinde saptanmaya başlanmaktadır. Retiküloendotelyal sistem ve böbreklerde temizlenene kadar 8 saatlik yarı ömür ile plazmada dolaşır. Postoperatif hastalarda D-dimer düzeyi bir haftada pik düzeye ulaşır ve bir ay kanda yüksek düzeyde kalır ve bu düzey günde %5-10 azalır. Plazma D-dimer düzeyi fibrinin oluşması ve plazmin tarafından yıkılması durumlarında artar. Plazma D-dimer düzeyi fizyolojik olarak hematoma, postoperatif dönem, gebelik, lohusa dönemi, 50 yaş üstü kişilerde, sigara kullanımı, afro-amerikan ırklarında yüksektir. Patolojik olarak orak hücre anemisi, akut aort diseksiyonu, Alzheimer hastalığı, anormal fibrinoliz, böbrek yetmezliği, karaciğer yetmezliği, şiddetli enfeksiyonlar, sepsis, yaygın damar içi pıhtılaşma, intrauterin fetal ex, kalp yetmezliği, atrial fibrilasyon, preeklampsi, abruptio plasenta ve tromboembolik durumlarda düzeyi yükselmektedir (Lippi ve ark., 2008; Pulivarthi ve Gurrarn, 2014; Weitz ve ark., 2017; Demelo-Rodriguez ve ark., 2020).

D-dimerin Yanlış Negatif Olduğu Durumlar

Kronik PTE, kumadin tedavisi, subsegmental PTE, izole baldır trombozu, konkomitantikoagulasyon, izole pulmoner enfarkt gibi bazı hastaya bağlı faktörlerin ve ciddi lipemi, hemoliz, yanlış hasta örnekleri, örneklerin analiz yapılmadan önce gereğinden fazla beklemesi sonucu proteolize bağlı protein degradasyonuna bağlı sistemsel ve analiz sorunları nedeniyle D-dimer düzeylerinde yanlış negatiflik söz konusu olabilmektedir (Kline ve Kabrhel, 2015; Thompson ve Kabrhel, 2018).

D-dimer Ölçüm Yöntemleri

D-dimer testleri (Dagkiran ve ark., 2015; Riley ve ark., 2016);

1. Enzime Bağlı İmmünosorbent veya İmmünofloresan Testler
 - ELISA: Asserachrom, Cardiac Reader, NycoCard, Instant IA
 - ELFA: VIDAS
2. Lateks ile Güçlendirilmiş İmmünotürbidimetrik Testler
 - Liatest
 - Tinaquant,
 - HemosIL
 - INNOVANCE
 - Nordic blue ve red
3. Tam Kan Aglütinasyon Testleri
 - SimpliRED
 - Simplify)
4. Klasik Latex Aglütinasyon Testleri
 - Dimertest Latex

D-dimer sonuçlarını klinisyenler karşılaştırırken monoklonal antikorların farklı epitopları tanıdığı, farklı boyutta olan yıkım ürünleri üzerinde D- dimer antijenleri olduğunu, ölçüm yöntemlerinin farklılığını ve ölçüm kalibrasyon standartlarının kullanılan cihazlara göre değiştiğinin gözönünde bulundurulması gerektiğini önermektedirler. D-dimer düzeylerinin ölçümlerinde farklı ve çok sayıda ölçüm kullanılabilmesi önemli sorunlar oluşturmaktadır. D-dimer serumda kantitatif ölçümlerinin (ELISA, ELFA ve immünotürbidimetrik testler) duyarlılığı, kalitatif (tam kan aglütinasyon ve klasik latex aglütinasyon testleri) yöntemlere göre yüksek olmakla birlikte yapılan analizlerin sensitiviteyi oldukça yüksek olmasına rağmen spesifiteyi %40-60 arasındadır (Kline ve Kabrhel, 2015; Thompson ve Kabrhel, 2018).

KAYNAKÇA

- Soomro, A. Y., Guerchicoff, A., Nichols, D. J., Suleman, J., Dangas, G. D. (2016). The current role and future prospects of D-dimer biomarker. *European Heart Journal-Cardiovascular Pharmacotherapy*, 2(3), 175-184.
- Querol-Ribelles, J. M., Tenias, J. M., Grau, E., Querol-Borras, J. M., Climent, J. L., Gomez, E., et al. (2004). Plasma d-dimer levels correlate with outcomes in patients with community-acquired pneumonia. *Chest*, 126: 1087–1092.
- Zhang, L., Yan, X., Fan, Q., Liu, H., Liu, X., Liu, Z., et al. (2020). D-dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with Covid-19. *J Thromb Haemost*, 18: 1324–1329.
- Soni, M., Gopalakrishnan, R., Vaishya, R., Prabu, P. (2020). D-dimer level is a useful predictor for mortality in patients with COVID-19: Analysis of 483 cases. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev*, 14: 2245–2249.
- Zhou, F., Yu, T., Du, R., Fan, G., Liu, Y., Liu, Z., Xiang, J., Wang, Y., Song, B., Gu, X., et al. (2020). Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID- 19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*, 395(10229): 1054-62.
- Linkins, L. A., Takach Lapner, S. (2017). Review of D-dimer testing: good, bad, and ugly. *Int J Lab Hematol*. 39(S1):98–103.
- Lippi, G., Bonfanti, L., Saccenti, C., Cervellin, G. (2014). Causes of elevated D-dimer in patients admitted to a large urban emergency department. *Eur J Intern Med*, 25(1):45–8.
- Yao, Y., Cao, J., Wang, Q., Shi, Q., Liu, K., Luo, Z., Hu, B. (2020). D-dimer as a biomarker for disease severity and mortality in COVID-19 patients: a case control study. *Journal of Intensive Care*, 8(1), 1-11.
- Seymour, C. W., Kennedy, J. N., Wang, S., Chang, C. H., Elliott, C. F., Xu, Z., et al. (2019). Derivation, validation, and potential treatment implications of novel clinical phenotypes for sepsis. *JAMA*, 321:2003–17.

- Engelmann, B., Massberg, S. (2013). Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol*, 13:34–45.
- Dhainaut, J. F., Yan, S. B., Joyce, D. E., Pettilä, V., Basson, B., Brandt, J. T., et al. (2004). Treatment effects of drotrecogin alfa (activated) in patients with severe sepsis with or without overt disseminated intravascular coagulation. *J Thromb Haemost*, 2:1924–33.
- Meini, S., Sozio, E., Bertolino, G., Sbrana, F., Ripoli, A., Pallotto, C., Tascini, C. (2021). D-Dimer as Biomarker for Early Prediction of Clinical Outcomes in Patients with Severe Invasive Infections Due to *Streptococcus Pneumoniae* and *Neisseria Meningitidis*. *Frontiers in Medicine*, 8, 485.
- Hoeprich, P. D., Doolittle, R. F. (1983). Dimeric half-molecules of human fibrinogen are joined through disulfide bonds in an antiparallel orientation. *Biochemistry*, 22:2049-2055.
- Gaffney, P. J., Joe, F. (1979). The lysis of crosslinked human fibrin by plasmin yields initially a single molecular complex, D dimer-E. *Thromb Res*, 15:673-687.
- Dempfle, C. E. (2005). Validation, calibration, and specificity of quantitative D-dimer assays. *Semin Vasc Med*, 5:315-320.
- Dempfle, C. E., Zips, S., Ergül, H., Heene, D. L., Group FACTs. (2001). The Fibrin Assay Comparison Trial (FACT): Evaluation of 23 quantitative D-dimer assays as basis for the development of D-dimer calibrators. FACT study group. *Thromb Haemost*, 85:671-678.
- Weitz, J. I., Fredenburgh, J. C., Eikelboom, J. W. (2017). A Test in Context: D-Dimer. *J Am Coll Cardiol*, 70(19): 2411–20.
- Demelo-Rodriguez, P., Galeano-Valle, F., Salzano, A., Biskup, E., Vríz, O., Cittadini, A., et al. (2020). Pulmonary Embolism: A Practical Guide for the Busy Clinician. *Heart Fail Clin*, 16(3): 317–30.
- Lippi, G., Franchini, M., Targher, G., Favaloro, E. J. (2008). Help me, Doctor! My D- dimer is raised. *Ann Med*, 40(8): 594–605.

- Pulivarthi, S., Gurram, M. K. (2014). Effectiveness of D-dimer as a screening test for venous thromboembolism: an update. *N Am J Med Sci*, 6(10) 491–9.
- Kline, J. A., Kabrhel, C. (2015). Emergency evaluation for pulmonary embolism, part 2: Diagnostic approach. *J Emerg Med*, 49(1): 104–17.
- Thompson, B. T., Kabrhel, C. (2018). Clinical presentation, evaluation, and diagnosis of the nonpregnant adult with suspected acute pulmonary embolism - UpToDate. Wolters & Kluwer, 1–53.
- Dagkiran, H., Atas, R., Tomic, I., Plachtzik, C., Geisler, T., Gawaz, M. P., et al. (2015). Severe Pulmonary Embolism with Negative D-Dimer-Testing. *J Cardiol Ther*, 2(1): 265–8.
- Riley, R. S., Gilbert, A. R., Dalton, J. B., Pai, S., Mc Pherson, R. A. (2016). Widely used types and clinical applications of D-dimer assay. *Lab Med*, 47(2): 90–102.

BÖLÜM 6

KOLOREKTAL KANSER OLUŞUMUNDAKİ RİSK FAKTÖRLERİ VE BİYOBELİRTEÇLER

Msc. Arash ADAMNEJAD GHAFOUR ¹

Dr. Öğr. Üyesi Şeref Buğra TUNÇER²

¹ İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Kanser Genetiği BD, İstanbul, Türkiye
arash.adamnejad@gmail.com. ORCID ID: 0000-0002-4446-7783

² İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Kanser Genetiği BD, İstanbul, Türkiye
tuncerbugra@gmail.com ORCID ID: 0000-0001-8023-3223

GİRİŞ

Dünyada her geçen gün, ortalama yaşam standartlarının yükseldiği, yeterli sağlık hizmetlerine erişimin arttığı, hastalıkların teşhis ve tedavisinde hızlı klinik cevapların alındığı ve önemli ölçüde teknolojik gelişimin arttığı bir çağda yaşıyoruz. Bu gelişmeler neticesinde dünyanın çoğu bölgesinde ortalama uzun ve sağlıklı yaşam süreleri beklentisini etkilemiştir. Bununla birlikte, toplu yaşamın ve küreselleşmenin bir sonucu olarak dünya çapında bulaşıcı hastalıklardan ölüm oranları artmasına rağmen, kanser ölümleri son 40 yılda yaklaşık %40 oranında artmıştır. Önümüzdeki 15 yıl içinde bunun üzerine vakaların %50 oranında daha da artması bekleniyor ve 2030 yılında tahminen 13 milyon insanın hayatını kanser hastalığı kaynaklı kaybedebileceği öngörülmektedir. Hastalık insidansındaki değişiklikler, tarama programlarının başlatılmasına ve tedavideki gelişmelere bağlı olarak farklılaşmaktadır. Kolorektal kanser 1950'li yıllarda nadir olarak tanımlanabiliyordu, Ancak zaman geçtikçe batı ülkelerde baskın bir kanser türü haline geldi ve günümüzde kansere bağlı ölümlerin yaklaşık %10'unu oluşturmakta ve kadınlarda meme kanserinden sonra en sık görülen kanserler arasında yer almaktadır. Kolorektal kanser insidansındaki artışın nedenleri arasında nüfusun yaşlanması ve batı ülkelerinde sağlıksız beslenme alışkanlıkları, sigara kullanımı, düşük fiziksel aktivite ve obezitenin yaygınlığı yer almaktadır. Hastalık insidansındaki değişiklikler sadece sporadik hastalık oranlarında değil, aynı zamanda bazı ailesel kanser sendromlarında da belirgindir. Helikobakter pilori enfeksiyonuna (mide kanserine neden olan bir ajan) bağlı olmayan ve genellikle CDH1 mutasyonları sonucu oluşan mide kanseri ve DNA yanlış eşleşme onarımından (MMR) sorumlu genlerde kalıtsal mutasyonlar ile oluşan lynch sendromu (kalıtsal bir polipoz olmayan kolorektal kanser türü) sonucu meydana gelen kolorektal kanser bunlara örnek olabilir. (Harrison ve Benziger, 2011; Toyota ve Suzuki, 2010; You ve Jones, 2012). Cerrahi ve tıbbi tedavilerdeki gelişmelere rağmen, hastalıkta kür oranları ve uzun süreli sağkalım son birkaç dekatta pek değişmemiştir. Bu arka planda, kolorektal kanserde önce bir polipoid öncünün geldiği göz önüne alındığında, erken teşhis için tarama programlarını yaygınlaştırılmasını hızlandırmıştır.

Gerçekten de, tarama programlarının önümüzdeki 15 yıl içinde kolorektal kanser insidansını ve mortalitesini üzerinde düşürücü büyük bir etkisi olması beklenmektedir. Beklenen bu etki hızının, yaşam tarzı değişikliklerinden veya yeni tedavi olanaklarının geliştirilmesinden beklenmesi pek olası değildir. Tarama faaliyetlerinde, invaziv olmayan taramalarda (örneğin fekal immünokimyasal testler ve fekal dna testi) büyük ilerlemeler kaydedilse de, kolorektal kanserde mevcut altın standart tarama yöntemi olan kolonoskopiye alternatif olarak halen kullanılamamaktadır. Tüm bu gelişmelerle birlikte, tarama içerikli kolonoskopi de her geçen gün teknik iyileştirmeler sonucu görüntü çözünürlüğü, işlem öncesi hazırlık ve hasta konforu gibi konularda önemli gelişmeler sağlanmıştır (Lech, Slotwinski ve Krasnodebski, 2014; Ting ve diğerleri, 2013)

1. EPİDEMİYOLOJİ

Kolorektal kanser vakalarının yarısından fazlası dünyanın daha gelişmiş ülkelerinde görülmektedir. Kolorektal kanserin yaşa göre standardize edilmiş insidans oranı erkeklerde (100.000'de 37,7) kadınlarda ise (100.000'de 14,3) olarak bildirilmiş ve erkeklerde oran daha yüksektir. Yaygın metastatik kolorektal kanserli hastaların çoğu 50 yaşın üzerindedir, rektum kanserli hastaların %75'i ile kolorektal kanserli hastaların %80'i tanı anında 60 yaşın üzerinde olarak belirlenmiştir. 2020 yılında dünya çapında 730.000 kadının kolorektal kanserinden öldüğü belirlenmiştir. Kolorektal kanseri meme, akciğer ve rahim ağzı kanserinden sonra dünya çapında kadınlarda kanser ölümlerinin dördüncü önde gelen nedeni olmuştur. (<https://Seer.Cancer.Gov/Statfacts/Html/Colorect.Html>).

2. HASTALIĞIN RİSK FAKTÖRLERİ

Kolorektal kanser etiyojisinde hem genetik hem de çevresel faktörler önemli rol oynamaktadır. Kolorektal kanserlerin çoğu diffüz özelliktedir. Hastaların neredeyse dörtte üçünün aile öyküsü bulunmamaktadır. Çoğu batı popülasyonunda, ortalama yaşam boyu kolorektal kanser geliştirme riski yüzde 3 ila 5 arasındadır. Bununla birlikte, 50 ve 70 yaşları arasında birinci dereceden bir aile üyesine kolorektal kanser teşhisi konan kişilerde risk neredeyse iki katına

çıkılmaktadır. Birinci derece akrabaların tanı yaşı 50 altındaysa risk üç katına kadar çıkabilmektedir. İki veya daha fazla aile üyesi kolorektal kanserden etkilenen kişilerde risk daha da artmaktadır. Kolorektal kanserin yaygın olarak tespit edildiği ailelerde artan risk, düşük penetrasyonlu genetik faktörleri yansıtabilmektedir. Buna göre, kolorektal kanserli hastaların yaklaşık %15-20'sinde pozitif bir aile öyküsü söz konusu olabilmektedir. Bu hastalar tüm hastaların %5-10'unu oluşturan kalıtsal kolorektal kanser sendromundan etkilenen bireyleri ve hasta popülasyonunun belirli bir alt grubunu oluşturur. Bu kategorideki en yaygın sendrom Lynch sendromudur. Bu sendroma, DNA'da hatalı nükleotid kesip-çıkarma tamir mekanizmasında görev alan (mis match repair, MMR) genlerinden birindeki meydana gelen zararlı mutasyonlar neden olmaktadır.

Replikasyon sırasında bozulmuş onarım mekanizması, özellikle tekrarlayan nükleotid dizileri olan mikrosatellit dizilerindeki instabiliteye neden olarak DNA fragmanlarında meydana gelen mutasyonların birikmesine neden olmaktadır. Bu kararsız yapı (MSI), bir polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testi kullanılarak tespit edilebilir. Lynch sendromlu hastalar daha önce Amsterdam ve Bethesda kriterleri (Grutzmann ve diğerleri, 2008; Itzkowitz ve diğerleri, 2008) gibi klinikopatolojik kriterlerle tanımlanmıştır. Bununla birlikte, klinik uygulama olarak, spesifik onarım proteinlerinin ekspresyonundaki farklılıklar ve uyumsuzluklar nedeniyle MSI, PCR ve IHC yöntemleri kullanılarak 70 yaşından önce teşhis edilen tüm hastalarda tümör materyalinin analizi önerilmektedir. İkinci en yaygın kolorektal kanser sendromu, ailesel adenomatöz polipozisdir. Bu sendroma, WNT sinyal yolunun aktivitesini kontrol eden adenomatöz polipozis koli (APC) genindeki mutasyonlar neden olur. Ailesel adenomatöz polipozisli hastaların çoğunda genç yaşta çok sayıda polip sonrası kolorektal adenom ve ardından kolorektal kanser gelişmektedir. Kolorektal kanserin farklı diğer kalıtsal sendromları da mevcuttur. MUTYH, DNA glikozilaz geninde mutasyonların olduğu polipozdur. Peutz-jeghers sendromu, tırtıklı polip ve juvenil polipler ile inflamatuvar bağırsak hastalığının (IBH) neden olduğu kronik kolit vb. hastalıkların kolorektal kanser gelişme riskinin artmasına neden olduğu

bildirilmektedir. Ayrıca daha uzun IBH süresi ile bu riskin arttığı da bildirilmiştir. (Crea ve diğerleri, 2011). IBH, batı popülasyonlarında kolorektal kanserlerin sadece %1'ini oluşturmaktadır ve bir dizi çalışma, IBH olan kişilerde kolorektal kanser insidansının, tedaviye bağlı olarak etkili anti-inflamatuar ilaçlar ve gelişmiş sürveyans ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Çeşitli çevresel (çoğunlukla değiştirilebilir) yaşam tarzı faktörleri de kolorektal kanser riskini etkilemektedir. Bu risk sigara ve alkol tüketimi ve kilo alımı ile artabilmektedir. Vücut kitle indeksindeki her birim artışı için kolorektal kanser gelişme riski %2 ila %3 arasında artmaktadır (Nakao ve diğerleri, 2011). Yakın bağlantılı olarak, tip 2 diyabetli hastalarda da kolorektal kanser gelişme riskinin arttığı bildirilmiştir. (Munoz-Bellvis ve diğerleri, 2012). Orta düzeyde alkol (2–3 double/gün) riski %20 artırırken, daha da yüksek alkol tüketimi %50 artmış riskle ilişkili bulunmuştur (Fleming ve diğerleri, 2013). Uzun süreli sigara içmenin de benzer bir etkisi tespit edilmiştir (Fleming ve diğerleri, 2013; Watanabe ve diğerleri, 2010). Kırmızı et ve işlenmiş et tüketiminde günlük her 100 gram tüketim artışının kolorektal kanser riskini 1,16 kat arttırdığı belirlenmiştir. (Zhang ve diğerleri, 2010). Öte yandan süt, tam tahıllı yiyecekler, taze meyve ve sebzeler ile kalsiyum, lif, multivitamin ve d vitamini tüketimi de kolorektal kanser riskini azaltmaktadır. Günlük 10 gram lif, 300 mg kalsiyum veya 200 ml süt tüketimi kolorektal kanser riskinde yaklaşık %10'luk bir risk azalmasına neden olacağı tahmin edilmektedir. 30 dakikalık günlük fiziksel aktivite de benzer bir etkiye sahiptir. Düşük doz aspirin aynı zamanda kolorektal kanser riskinin azalmasıyla da ilişkili bulunmuştur (Alhopuro ve diğerleri, 2005).

Değiştirilebilir yaşam tarzı faktörlerinin fazlalığı, kolorektal kanser insidansındaki coğrafi ve sosyoekonomik farklılıkları da önemli ölçüde açıklamaktadır. Çeşitli araştırmalar, Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'ndeki kolorektal kanserlerin %16-71'i arasında farklı oranlarda yaşam tarzı faktörlerine bağlı olabileceğini tahmin etmektedir (Benatti ve diğerleri, 2005; Grady ve Carethers, 2008). Yaşam tarzı değişikliklerinden farklı oranlarda fayda, sağlanabileceği ve hatta aspirin ve diğer steroid olmayan anti-inflamatuar ilaçların düzenli

kullanımı ile de bu faydanın artırılabilceği bildirilmektedir (Sargent ve diğerleri, 2010; Sinicrope ve diğerleri, 2011). Statinlerin kullanımının da kolorektal kanser oluşumunda kucuk bir onleyici etkisi olabileceği tahmin edilmektedir (Liang ve diğerleri, 2013; Losso, Moraes Rda, Gentili ve Messias-Reason, 2012).

3. GENETİK VE SİTOGENETİK BİYOBELİRTEÇLER

1990'da Fearon ve Vogelstein, normal bağırsak mukozasının kolorektal karsinoma dönüşümünde yer alan genetik değişiklikleri tanımlayan kolorektal kanser tümörogenezi için bir model önermişlerdir. Bu anormal transformasyonda, adenomatöz poliplerin gelişiminde erken dönemde meydana geldiği düşünölen kromozom 5q üzerinde yer alan APC gen mutasyonu (adenomatous polipozis coli geni), KRAS aktivasyonu gibi genetik değişiklikleri içeren çok aşamalı bir süreçtir. V-KI-RAS2 gen homologu kirsten sıçan sarkoma viral onkogen homologu, 12p12 kromozomu üzerinde, adenomatöz evrede bulunan bir onkogen ve tümör proteini p53 (TP53) ve DCC tümör baskılayıcı genleri içeren 17p ve 18q kromozomal bölgelerinin kaybına sebep olmaktadır (Fearon ve Vogelstein, 1990). Birçok çalışma, Fearon ve Vogelstein tarafından tanımlanan bu ortak değişiklikleri ve ilave olarak 7q, 8q, 13q ve 20q kromozomlarının kazanımları ile 1p, 4p, 8p ve 22q kaybı gibi diğer değişiklikleri tanımlamışlardır. Bazı çalışmalar, 17p ve 18q heterozigotluk (LOH) kaybının, hastalığın daha ileri evreleri ile ilişkili olabileceğini göstermiştir. 17p ve 18q kaybının, kolorektal kanser patogenezinde önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır, çünkü bu iki kromozom anomalisinin, bağırsak epitelinin malign transformasyonu ile ilgili genleri taşıdığı ve ayrıca metastatik süreçte önemli bir rol oynadağı düşünölmektedir (Fearon ve Vogelstein, 1990; Gonzalez-Gonzalez ve diğerleri, 2012).

18. kromozomun uzun kolunun silinmesi (18q veya 18q loh kaybı), kolorektal kanserde en yaygın sitogenetik anomalidir ve 18q korozom bölgesi smad7, smad4 ve smad2 gibi birkaç önemli tümör baskılayıcı geni içerdığinden kötü prognoz ile ilişkili olabileceği tahmin edilmektedir. Ayrıca aracı transkripsiyon TGF- β ve DCC sinyal yolundadırlar (Fleming ve diğerleri, 2013). Fare çalışmaları, smad4

ekspresyonu kaybının, TGF- β büyüme baskılayıcı rolünü büyüme promotörü olarak değiştirdiği ve böylece kolorektal kanser hücrelerinin tümörjenik ve metastatik potansiyelini arttırdığını göstermektedir (Zhang ve diğerleri, 2010 115). Smad aktivite kaybı, kolorektal kanserlerin yaklaşık %10'unda meydana gelmektedir ve ilerlemiş hastalık, lenf nodu metastazlarının varlığı ve daha kısa genel sağkalım ile ilişkili bulunmuş ve önemli bir bağımsız prognostik faktör olabileceği gösterilmiştir. Sağkalım, özellikle evre 3 hastalığı olan hastalarda ve evre 3 mikrosatellit kararsızlığı olan hastalarda smad4 aktivitesi normal olan hastalar ile evre 2 hastalığı olan hastalarla benzer sonuçlara sahipken, evre 2 hastalığı olan ve mikrosatellit kararsızlığı olmayan fakat smad4 ekspresyon kaybı olan hastalar sağkalım açısından ve evre 3 hastalığı olanlara göre daha azdı (Roth ve diğerleri, 2012). Ayrıca, normal smad4 ekspresyonu, 5-FU bazlı kemoterapiden sağlanan faydada üç kat artış sağlayacak bir belirteç olabileceği tahmin edilmektedir (Grutzmann ve diğerleri, 2008). Smad4 kaybının ise tedavide zayıf yanıt için öngörücü bir belirteç olabileceği bulunmuştur (Sargent ve diğerleri, 2010). Bu nedenle, kromozomal anomalisi olan hastaların daha kötü prognoza sahip olduğu ve bunun da prognostik değere sahip olabileceği tahmin edilmektedir (Walther, Houlston ve Tomlinson, 2008).

3.1 Mikrosatellit İnstabilitesi

Kolorektal kanserde sık görülen genomik kararsızlık nedenidir. Nükleotit düzeyinde gözlemlenen ve çoğu zaman birden fazla nükleotidin silinmesi veya eklenmesiyle sonuçlanan mikrosatellit kararsızlığıdır. Mikrosatellitler, DNA onarım mekanizması (MMR) genlerinde meydana gelen mutasyon nedeniyle, replikasyon sırasında çerçeve kaymalarına veya baz çifti yer değiştirmelerine eğilimli genomda dağılmış olan kısa nükleotid dizilerinin polimorfik tandem tekrarlarında hatalara neden olur. Tekrarlanan nükleotid birimlerinin sayısındaki klonal bir değişikliği ifade eder ve MMR genlerinin (MSH2, MLH1, MSH6, PMS2) inaktivasyonu nedeniyle yanlış eşleşme onarımı hatalı olan tümörlerde görülür. Sık polipoz görülmeyen kolorektal kanserde (HNPCC), MSI mevcut olan

tümörlerin çoğu sporadik olarak meydana gelmektedir (Grady ve Carethers, 2008). MSI bulunan diffüz tümörler daha proksimal olma eğiliminde, yaşlı kadınlarda daha sık görülür, kötü diferansiye, müsinöz ve belirgin bir lenfositik infiltrasyon gösterir (Benatti ve diğerleri, 2005). Alkilleyici ajanlara ve sisplatine karşı dirençlerine rağmen, MSI yüksek bulunan tümörler genel olarak daha iyi ve nüksüz sağkalıma işaret etmektedir. Yüksek MSI durumu, hedefe yönelik tedavilerle uzun vadeli sonuçlarda ileri evre hastalara kıyasla avantaj sağlar (Zhang ve diğerleri, 2010). MSI yüksek bulunan tümörler, hastalığın tüm evrelerinde daha iyi bir prognoz ile ilişkilidir. MSI yüksek bulunan hastalar, MSI olmayan hastalara kıyasla önemli bir sağkalım avantajına sahiptir ve bunun nedeni de 5-FU kemoterapisine direnç gelişimi ve sonucunda daha kısa hasta sağkalımı ile ilişkili bulunmuştur (Sargent ve diğerleri, 2010). Bu nedenle, MSI yüksek bulunan kolorektal kanser hastaları için umut verici prognostik belirteçlerden biri olarak görülmektedir. Özellikle 5 farklı lokusun analiz edilmesinden oluşan bir panel (bat25, bat26, d2s123, d5s346 ve d17s2720) kullanılarak, MSI tanımı yapılabilmektedir. İki veya daha fazla lokusta instabilite durumunun tespitinde kullanılmaktadır.

3.2 APC Geni

APC genindeki mutasyonlar, ailesel adenomatöz polipozdan (FAP) ve sporadik kolorektal kanserlerin çoğundan sorumludur. APC geni, WNT sinyal yolağı, hücreler arası yapışma, hücre iskeleti stabilizasyonu, hücre döngüsü düzenlenmesi ve apoptozda önemli rolleri olan çok işlevli bir proteini kodlar. APC geninde meydana gelen mutasyonlar, c-MYC ve siklin-D1 gibi onkogenlerin düzensiz transkripsiyonuna yol açarak tümör oluşumunu arttırabilmektedir. Birçok kolorektal kanser hastasında WNT/APC/CTNNB1 (β -katenin) sinyal yolunun üyelerinde mutasyonlar tespit edilmektedir. WNT/APC/CTNNB1 sinyal yolunun kolorektal hücrelerin uygun işlevini sürdürmedeki kritik rolü göz önüne alındığında, bu yolaktaki genetik varyasyonların kolorektal kanser gelişimini etkileyebileceği öngörülmektedir. Bir meta-analiz araştırmasında, üç farklı APC polimorfizminin (D1822V, E1317Q, I1307K) kolorektal neoplazi

gelişim riskindeki artışın kapsamlı ve sistematik bir haritasını sunmaktadır; özellikle I1307K ve E1317Q varyantı, önemli ölçüde artmış kolorektal neoplazi riski ile ilişkilendirilmiş ve adenom geliştirme riskinde önemli bir artış saptanmıştır. Yapılan meta-analizler kolorektal neoplazi gelişiminin önlenmesi için olası stratejiler hakkında genetik bilgi sağlayabilirler (Liang ve diğerleri, 2013).

WNT yolağının iki anahtar geninde, APC ve CTNNB1'de tek nükleotid polimorfizmlerini (SNP) sistematik olarak değerlendirmek için kapsamlı bir yaklaşım kullanan birçok yeni çalışma, sağkalım analizi ile birlikte hastalarda daha yüksek dereceli bir genetik profil tanımlamışlardır. Koleraktal kanserli hastaların APC geninde rs565453 ve rs1816769, CTNNB1 geninde ise rs2293303 değişiklikleri genel sağkalım ile önemli ölçüde ilişkili bulunmuşlardır. Bu snp'ler, konsensus bağlanma bölgesi, transpozon elementler ve transkripsiyon faktörü bağlanma bölgelerinin dizisini değiştirerek APC/CTNNB1 bağlanmasını ve ekspresyonunu etkileyebilmektedir. Son zamanlarda, ileri evre kolorektal kanserde, WNT sinyal yolağının bir aktivatörü olan yüksek APC/miR-21 mutasyonuna sahip hastaların genel sağkalımının daha kötü olduğu bulunmuştur, bu nedenle hastalığın klinik tahmini için APC mutasyonu ve miR-21 ekspresyon verileri kullanılabilir. İlgili biyobelirteçlerin sağkalım tahmini ve tedavi etkinliğini değerlendirmek için değerli olabileceği bildirilmiştir (Ting ve diğerleri, 2013).

3.3 KRAS Geni

KRAS mutasyonları, cetuximab veya panitumumab gibi ajanlarla yapılan anti-EGFR monoklonal antikör tedavisine direnç ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. KRAS mutasyon durumu genellikle kolorektal kanser için kullanılan EGFR inhibitörlerine yanıt için bir öngörücü belirteç olarak kabul edilir. Kolorektal kanser için genellikle rutin klinik uygulamada testi ilk istenen biyobelirteçlerdendir. KRAS proteini sinyal iletim yolunda yer alan ve hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını modüle eden 21 kda'lık bir proteini (p21ras) kodlar. KRAS anomalileri sonucu genellikle epitelde tespit edilemeyen, histolojik olarak anormal kript odaklarında kolorektal neoplazmaların adım adım ilerlemesindeki ilk olaylardan birisidir. Onkogenik KRAS

mutasyonları, bu sinyal iletim yolunun yapısal aktivasyonuna yol açarak düzensiz proliferasyon ve bozulmuş farklılaşmaya neden olurlar (Bolocan, Ion, Ciocan ve Paduraru, 2012).

Wild(yabani) tip KRAS proteini, sıkı bir şekilde düzenlenmiş sinyal iletim mekanizması sırasında geçici olarak aktive edilir. Monoklonal antikorların EGFR'ye bağlanması tipik olarak reseptör içselleştirmesini indükler, doğrudan tirozin kinaz aktivitesini inhibe eder ve RAS/RAF/MAPK sinyalleşmesini bloke eder. Bununla birlikte, KRAS mutasyonları, aktif bir GTP bağlayıcı protein ile sonuçlanır, böylece EGFR dahil olmak üzere reseptörlerinin aktivasyon durumundan bağımsız olarak, kalıcı olarak aktif hale getirir. Örnek olarak, bir anti-EGFR molekülünün EGFR'ye bağlanması ve ligand aracılı reseptör aktivasyonunun inhibisyonu, herhangi bir baskılayıcı yolun oluşturulmasında başarısız olacaktır. Bu yol aktivasyonu düzensiz proliferasyona, bozulmuş farklılaşmaya ve anti-EGFR tedavilerine karşı dirence yol açmaktadır (Scaltriti ve Baselga, 2006). KRAS aktive edici mutasyonların %90 kadarı kodon 12 (%82-87) ve 13'te (%13-18) saptanmaktadır. Ancak 61, 63 ve 146 kodonlarında da genellikle mutasyonlar tespit edilmektedir. Kolorektal kanserde en yaygın KRAS mutasyonların nokta mutasyonlarıdır. Özellikle G>A ve G>T değişimleri tespit edilmektedir. Kodon 12 ve 13, katalitik bölgeye bitişik iki glisin kalıntısını kodlar (Bazan ve diğerleri, 2002). Spesifik KRAS mutasyonları fenotipik olarak heterojen olabilmektedir. Örneğin kodon 12 mutasyonları, genellikle müsinöz bir kolorektal fenotipi ile ilişkilendirilmiştir. Buna karşılık, kodon 13 mutasyonları ile ilişkili kolorektal kanserler nispeten müsinöz değildir, Ancak metastatik potansiyele sahip daha agresif tümörler olarak karakterize edilmektedirler (Gonzalez-Gonzalez ve diğerleri, 2012). Bununla birlikte, G12A mutasyonuna sahip kolorektal kanserli hastalarda hastalığın agresif (evre III veya IV ve metastatik veya yaygın tekrarlayan hastalık) olarak seyrettiği gözlemlenmiştir (Cushman-Vokoun ve diğerleri, 2013).

KRAS mutasyonları, küçük veri setleri doğrulandığı gibi, anti-EGFR monoklonal antikorlara karşı majör bir tedavi metodu veya direnç olarak da ortaya çıkmıştır. Bu çalışmalarda, KRAS

mutasyonlarını barındıran metastatik kolorektal kanserli hastaların, tek başına veya standart kemoterapi ile kombinasyon halinde cetuximab veya panitumumab ile tedaviden fayda görmedikleri anlaşılmıştır. Bu sayede kolorektal kanserli hastalar için kişiselleştirilmiş tıbbın ilk pratik uygulaması keşfedilmiş ve KRAS mutasyonları, anti-EGFR tedavisine spesifik bir negatif biyobelirteç olarak kabul edilmişlerdir. Bununla birlikte, tüm KRAS mutasyonlarının biyolojik özellikleri ve EGFR direnci üzerindeki etkileri bakımından aynı olmadığı ve bazı KRAS mutasyonlarının EGFR inhibitör tedavisine karşı direnç oluşturmadığı ortaya çıkmış,(De Roock ve diğerleri, 2010; Sastre ve diğerleri, 2011; Soeda ve diğerleri, 2013) ve retrospektif ve ileriye dönük çalışmalarla analiz edilmiştir (Bokemeyer C; Karapetis ve diğerleri, 2008; Peeters ve diğerleri, 2010).

3.4 Kolorektal Kanser Patolojisi ve Prognozunun Diğer Klinik Biyobelirteçleri

BRAF (V-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1), aktive edilmiş RAS'ın downregülasyonu için efektör olan bir protein serin treonin kinazı kodlayan raf gen ailesinin bir üyesidir (Tol ve diğerleri, 2010). Son on yılda, birçok çalışma BRAF somatik mutasyonunun kolorektal kanserlerin yaklaşık %10'unda tespit edildiğini göstermiştir (Goel ve diğerleri, 2007). BRAF mutasyonu için hot-spot bölgeler, BRAF protein kinaz aktivasyon alanında 600. aminoasit valin'nin glutamik aside (v600e) dönüşümüdür ve kolorektal kanserdeki BRAF mutasyonlarının %80'ini oluşturur. V600E mutasyonuna sahip kanser hücreleri fonksiyonel RAS proteini olmadan büyüebildiğinden, bu nedenle KRAS mutasyonlu kolorektal kanser hastalarında BRAF V600E mutasyonları bulunmaz, bu hot-spot bölgenin diğer BRAF mutasyonlarından biyolojik olarak farklı olduğu ileri sürülmektedir (De Roock ve diğerleri, 2010). BRAF mutasyonları, genellikle yüksek dereceli, sağ taraflı kolon tümörlerinde, erkek cinsiyeti, ileri yaş ve MSI-h tümörler ile ilişkilendirilmiştir (Van Cutsem ve diğerleri, 2011). BRAF mutant tümörlerde belirgin bir metastatik yayılım paterni de gözlenmiştir, yani daha yüksek oranda peritoneal metastaz, perilenf düğümü metastazları ve daha düşük

oranda akciğer metastazları görülmektedir (Munoz-Bellvis ve diğerleri, 2012). Kolorektal kanser hastalarında BRAF mutasyonları prognostik olarak cinsiyete bağlı farklılıklar göstermiştir, özellikle erkeklerde belirgindir (Watanabe ve diğerleri, 2010).

Fosfatidilinositol 3-Kinaz (PI3K), hücre çoğalması ve hayatta kalması dahil olmak üzere çeşitli biyolojik süreçleri destekleyen lipid kinazdır. PI3K'nın p110 α katalitik alt birimini kodlayan PIK3CA genindeki mutasyonlar, birçok insan solid tümöründe tanımlanmıştır (De Roock ve diğerleri, 2010). Kolorektal kanserlerde, vakaların %10-20'sinde bulunan PI3K mutasyonları, klinikopatolojik özellikler ve spesifik moleküler değişiklikler ile proksimal kolon tümör yerleşimi, müsinöz farklılaşma, KRAS mutasyonu ile rapor edilmiştir (Rosty ve diğerleri, 2013). KRAS, BRAF, PI3K mutasyonlarının klinik ve/veya biyolojik olarak alakalı bir tümör alt kümesini tanımlayıp tanımlamadığı açık değildir. PI3K mutasyonunun olumsuz prognostik etkisinin, BRAF wild tip tümörlü hastaların sağkalımını sınırladığını gözlemlenmiştir. (Rosty ve diğerleri, 2013). PI3K aktive edici mutasyonu genellikle üç bölgede gözlemlenir, sarmal alanda ekzon 9, kodonları 542 ve 545 ve kinaz alanında ekzon 20 ve kodon 1047'dir. Bu bölgelerin herhangi birindeki mutasyonların enzim aktivitesini arttırdığı ve in vitro ve in vivo onkogenik transformasyonu desteklediği gösterilmiştir. PI3K ekson 9 ve 20 mutasyonlarının bir arada bulunması ise kolorektal kanserli hastaların kötü prognozu ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Zhao ve Vogt, 2008). Son zamanlarda, PI3K mutasyonu olan hastalarda, tanıdan sonra düzenli olarak aspirin kullanan hastalarda daha uzun sağkalım ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir (Liao ve diğerleri, 2012).

PTEN geni ekspresyonunun kaybı (PTEN, PI3K/AKT sinyallemesinin homeostatik olarak düzenlenmesinde rol oynayan anahtar bir tümör baskılayıcı gendir) yüksek oranda uzak metastaz ile ilişkilendirilmiştir (Soeda ve diğerleri, 2013). Bununla birlikte, PTEN ekspresyonu normal olarak tespit edilen hastalar, PTEN ekspresyon kaybı olan hastalardan daha uzun bir genel sağkalıma sahip olduğu bildirilmiştir (Tural ve diğerleri, 2014).

TP53, hücre bölünmesi, büyümesi ve apoptozun düzenlenmesinde görev alan tümör baskılayıcı bir genidir. TP53 ekspresyonunun evre 3 tanılı tümörü olan hastalarda hastaliksız sağkalım için önemli bir prognostik faktör olduğunu gösterilmiştir, ayrıca yüksek wild tip TP53 genine sahip ve normal ekspresyon profiline sahip evre 3 tanılı tümörlerin kemoterapi sonrası önemli ölçüde gerilediği ve daha iyi bir prognoza sahip olduğunu gösterilmiştir (Huh, Kim ve Kim, 2013).

Kromozom 4q25-q28.2 üzerindeki aday tümör baskılayıcı genleri inceleyen bir çalışma, 4q26'da tanımlanan yeni bir aday tümör baskılayıcı gen olarak NDST4 geni tespit edilmiştir. Bu geni, kolorektal kanserli tümörlerde önemli ölçüde down-regüle edildiği ve bu genetik sapmanın, daha yüksek patolojik evrelere (t3 ve t4) sahip tümörlerde önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. NDST4, doku yapısına katkıda bulunan heparan sülfat proteoglikanları (hspg'ler) oluşturmak üzere nükleer proteinler üzerinde heparan sülfatın (hs) biyosentezinden sorumlu olan n-deasetilaz/n-sülfotransferaz (heparan glukozaminil) (ndst) ailesinin bir üyesidir. NDST4 fonksiyon kaybının, spesifik hspg'lerin hs zincir modifikasyonunu bozabileceği ve reseptörler ile hücre yapışma ligandlarının etkileşiminin yeniden modellenmesi yoluyla daha istilacı tümör hücrelerine yol açabileceği bildirilmiştir. NDST4 ekspresyon kaybının, kolorektal kanserli hastalar için olumsuz bir prognostik biyobelirteç işlevi görebileceği düşünülmektedir (Tzeng ve diğerleri, 2013).

3.5 Tedavi Yanıtının Genetik Biyobelirteçleri

Geçtiğimiz yıllarda yapılan çalışmalarla, kolorektal kanser tedavisinde, oksaliptatin, irinotekan, setuksimab, panitumumab, bevacizumab, aflibercept ve regorafenib gibi kemoterapötik ajanlar, geleneksel florourasil (5-fu) tedavisine ek olarak onaylanmıştır ve bu ilave tedavilerle medyan genel sağkalımı arttığı bulunmuştur. Metastatik kolorektal kanserli hastaların (MCRC) sağkalımı, esas olarak yeni kemoterapi bileşikleri (5-fu, irinotekan, oksaliptatin) ve aralarında iki monoklonal antikorun bulunduğu yeni tedavilerin kullanılmaya başlamasıyla geçtiğimiz on yıllar içinde kademeli olarak

iyilemiştir. Epidermal büyüme faktörü reseptörü, setuksimab ve panitumumab, MCRC tedavisinde etkilidir. Bununla birlikte, bu tedavilerin toksik yan etkilerinin sıklığı ve pahalılığı nedeniyle tedaviden fayda görme olasılığı en yüksek olan hastaların seçilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Çeşitli analizler, birinci ve ikinci basamak tedavi alan KRAS mutasyonlu hastaların setuksimab veya Panitumumab tedavilerine yanıt vermediğini ve bu tür tedavilerden sağkalım yararı göstermediğini bulunmuştur. Bu nedenle, KRAS kodon 12 ve kodon 13 mutasyona uğramış tümörleri olan MCRC hastaları şu anda anti-EGFR monoklonal antikor tedavisinin dışında tutulmaktadır. Ayrıca, NRAS, BRAF ve PI3KCA mutasyonlarının (De Roock ve diğerleri, 2010; Mao, Yang, Hu, Chen ve Tang, 2012; Soeda ve diğerleri, 2013) tedaviyi olumsuz etkilediği bulunan irinotekan ile birleştirildiğinde anti-EGFR antikorlarına direnci de bildirdiği tespit edilmiştir(De Roock ve diğerleri, 2010). Bu nedenle, KRAS mutasyon durumu, klinik ortamda anti-EGFR mono klonal antikor direncinin önemli bir belirleyicisi olarak ortaya çıkmıştır. Ancak yine de bu tip direncin tek belirleyicisi konumunda değildir (Soeda ve diğerleri, 2013). Kolorektal kanserli hastalarda düzenli aspirin kullanımının, wild tip BRAF geni sahip kişilerde sağkalımı arttırdığı bulunmuştur, ancak BRAF mutant kolorektal kanseri ile ilişkilendirilmemiştir. Bu bulgular, BRAF mutant kolorektal tümör hücrelerinin aspirinin etkisine daha az duyarlı olabileceğini düşündürmektedir (Cushman-Vokoun ve diğerleri, 2013). KRAS ve BRAF mutasyonlarına ek olarak, PTEN ekspresyonunun kaybı ve PI3K mutasyonlarının, metastatik kolorektal kanserde anti-EGFR tedavi başarısızlığının muhtemel belirleyicisi olduğu düşünülmektedir(Sood ve diğerleri, 2012). PTEN ekspresyonu normal olan tümörler, setuksimab bazlı tedaviye PTEN ekspresyon kaybı olan tümörlere göre istatistiksel olarak daha yüksek yanıt oranlarına sahip olduğu bildirilmiştir (Tural ve diğerleri, 2014). MSI bulunan kolorektal kanserin bulunmayanlara kıyasla daha iyi bir prognoza sahip olduğu, MSI'nin kolorektal kanserinde 5-fu bazlı kemoterapiye direnç gösterdiği bildirilmiştir (Devaud ve Gallinger, 2013).

3.6 Kolorektal kanserde DNA Metilasyon Biyobelirteçleri

Kolorektal kanser dokularında global DNA hipometilasyonu ve azalmış toplam 5-metilsitozin içeriği ilk olarak 1983 yılında feinberg ve vogelstein tarafından bildirilmiştir. Yaşa bağlı olarak ve erken karsinogenezde ortaya çıkan tekrarlayan dizilerdeki azalma esas olarak CpG dinükleotidlerinde gözlenmiştir. Kolorektal kanser dokularındaki global DNA hipometilasyonunun, tümör baskılayıcı genlerin veya DNA onarım proteinlerini kodlayan genlerin hipermetilasyonu ve transkripsiyonel susturulması ile ilişkili olduğu da bilinmektedir (Feinberg ve Vogelstein, 1983). Kolorektal kanser genomunda yüzlerce genin anormal şekilde metillendiğini ve APC, AXIN2, DKK1, SFRP1, SFRP2, WNT5 vb. DNA onarım genlerinin MGMT gibi WNT sinyal yolu genleri dahil olmak üzere daha birçok geni de içerdiği bildirilmiştir. HMLH1 ve HMLH2, CDKN2a_{ink4a}(p14), CDKN2a_{ink4b}(p15) ve CDKN2a_{arf}(p16) gibi hücre döngüsü ile ilgili genler, RAS sinyal genleri RASSF1A ve RASSF1B ve diğer genler belirlenmiştir. Tüm kolorektal kanserler hipometilasyon varlığı ile karakterize edilse de, bunların CpG adası metilatör fenotipi (CIMP+) olarak karakterize edilen belirli bir alt grubu da yüksek düzeyde metillenmiş genler içermektedir (Goel ve diğerleri). Epigenetik bir perspektiften, kolorektal kanserler genel olarak CpG adalarında metilasyonu artmış DNA metilasyonu olan (CIMP+) ve olmayan tümörlere ait genetik değişiklikler göz önüne alındığında birkaç alt tip bildirilmiştir. Bunlar; (1) MLH1 metilasyonu, MSI ve BRAF V600E mutasyonu ile bağlantılı kansere özgü çok yüksek DNA hipermetilasyonu sıklığı gösteren CIMP-yüksek tümörler; (2) KRAS mutasyonları ile ilişkili CIMP-düşük tümörler, CIMP-yüksek ilişkili genlerin bir alt kümesinin metilasyonu ile karakterize edilir. (3) TP53 mutasyonu ve distal kolonda sık görülmesi ile karakterize edilen CIMP tespit edilmeyen tümörler. (4) Kansere özgü gen mutasyonu ve hipermetilasyon sıklığının düşük olduğu ve rektal tümörlerde zenginleştirilmiş CIMP tespit edilmeyen tümörlerdir (Alhopuro ve diğerleri, 2005). Bu epigenetik değişikliklerin birçoğunun kolorektal kanser teşhisi, ilerlemesi, prognozu, metastaz eğilimi ve tedaviye yanıt için değerli biyobelirteçler olabileceğini düşündürmektedir.

3.7 Kolorektal Kanser Teşhisi İçin Metilasyon Biyobelirteçleri

Kolorektal kanser hücrelerinde anormal DNA metilasyon paternleri, kanser hastalarının kanında veya dışkısında bulunan tümör kaynaklı hücresiz DNA'da (ctDNA) tespit edilebilmektedir ve ayrıca kandaki DNA metilasyon profillerinin sıklıkla kolorektal kanser dokularındakileri yansıttığına dair kanıtlar bulunmaktadır (Sood ve diğerleri, 2012). Bu veriler araştırmacıları bu örneklerde DNA metilasyon biyobelirteçlerini araştırmaya ve invaziv olmayan uygun maliyetli kan ve dışkı tabanlı epigenetik kolorektal kanser teşhis araçları geliştirmeye yönlendirmiştir (Lange ve Laird, 2013). Plazmada anormal şekilde metillenmiş Septin 9'un (SEPT9) varlığı, kolorektal kanser tanısında yaklaşık %90 duyarlılık ve özgüllük gösteren değerli ve minimal invaziv kan bazlı bir belirteç olduğu bildirilmiştir (Grutzmann ve diğerleri, 2008). Kolorektal kanseri tüm aşamalarında ve lokasyonlarda tespit edebildiği öngörüldüğünden ticarileştirilmiştir (Feinberg ve Vogelstein, 1983). Araştırmacılar, bu kan bazlı testin duyarlılığını artırmak için ALX4 ve HMTF gibi genlerin metilasyon analizine dahil etme olasılığını değerlendirmişlerdir (Feinberg ve Vogelstein, 1983). SEPT9 dışındaki kan bazlı biyobelirteçlerde araştırılmıştır. Kolorektal kanser dokularında, serum ve dışkı DNA'sında salgılanan Protein 2 (SFRP2) geninin metilasyon durumu, kolorektal kanserin yaklaşık %67'sinde tanımlanabileceği bildirilmiştir (Feinberg ve Vogelstein, 1983). Metillenmiş Trombomodulin geninin (THBD) %80 özgüllükle evre 1/2 kolorektal kanser olgularının %74'ünü saptadığını (Alhopuro ve diğerleri) ve Syndecan 2 geninin (SDC2) metilasyonunun evre 1 kolorektal kanser için %92'lik bir duyarlılığa sahip olduğunu gösterilmiştir. ABD'de Vimentin gen metilasyonunun (VIM) analizi için dışkı bazlı bir testi daha mevcuttur ve bu test yaklaşık %80 özgüllük ve duyarlılığa sahiptir. Dışkı örneklerinden izole edilen birkaç farklı hipermetile gen daha mevcuttur. Bunlar; APC, P16, HMLH1, MGMT, SFRP1, SFRP2 ve VIM (Walther A) dahil olmak üzere kolorektal kanser ve adenomların teşhisi için biyobelirteçler olarak kullanılabilmesi bildirilmiştir. Meta-analizi çalışmaları sonrası ilgili genlerle kolorektal kanser veya adenomu

saptama duyarlılığının %62 ila %75 arasında değiştiği bildirilmiştir. Kolorektal kanser hastalarının dışkı örneklerinde Fibrillin-1'in (FBN1) hipermetilasyonu da saptanmıştır ve kolorektal kanser tanısı için %72 duyarlılık ve %93 özgüllük gösterdiği bildirilmiştir (Crea ve diğerleri, 2011).

3.8 Kolorektal Kanserın Evreleme ve Prognozunun DNA Metilasyon Biyobelirteçleri

Yapılan bir çalışmada, normal kolon epitelinden adenokarsinoma yol açan çok aşamalı süreçte DNA metilasyonu ile ilgili birçok gen araştırılmıştır. Altı farklı genin (SLC5A8, SFRP1, SFRP2, CDH13, CRBP1 ve RUNX3) ve iki farklı lokusun (MINT1 ve MINT31) normal bir kolon epitelinden anormal kript odaklarına geçişte tutarlı bir şekilde metillendiği tespit edilmiştir. Diğer genlerin ise (P14, HLTF, ITGA4, P16, CDH1 ve ESR1) anormal kript odaklarından polip/adenomaya geçişte sıklıkla metillendiği bulunmuştur. Dört farklı genin ise (TIMP3, CXCL12, ID4 ve IRF8) kolorektal kanserin ilerlemesinde ve metastazında rol oynayabileceği bildirilmiştir. Ayrıca erken başlangıçlı kolorektal kanserde yüksek derecede LINE-1 hipometilasyonu bulunmuş ve sıklıkla kolorektal kanserin kötü prognosisla ilişkilendirilen farklı bir klinik formu olarak bildirilmiştir (Feinberg ve Vogelstein, 1983). LINE-1'in hipometilasyonu, kolorektal kanser metastazında proto-onkogenlerin aktivasyonuna yol açmaktadır (Tol ve diğerleri, 2010). MSI'nin kolorektal kanserin klinik sonucunun LINE-1 metilasyonuna bağlı olduğuna dair göstergeler de vardır, bu da düşük LINE-1 metilasyon durumunun olumsuz prognozun önemli bir prognostik parametresi olarak Kabul edilmesini düşündürmektedir (Rhee ve diğerleri, 2012). Kript adenomlar, tipik adenoma-karsinom yolundan farklı bir moleküler yol izleyerek malignite potansiyeli taşıyan ve kolorektal premalign lezyonların ayrı bir alt grubunu oluşturmaktadır (Kirvela ve Nieminen, 1990). WNT gen ailesinin bir üyesi olan WNT5A geninin metilasyonu, primer mide kanserinde de sıklıkla tespit edilmiştir (Hibi K). Ayrıca, CUB ve SUSHI MULTIDOMAIN 1 (CSMD1) geninin somatik mutasyonları, allelik kaybı ve DNA metilasyonu sonuçlarının işlevi hala belirsiz olup,

kolorektal kanserde için erken klinik belirtilerle ilişkili bulunmuştur (Shull ve diğerleri, 2013).

Kolorektal kanser prognostik biyobelirteçleri ile ilgili olarak, P14, RASSF1A ve APC genlerinin DNA metilasyonu, tümör evresi ve farklılaşmasından bağımsız olarak kolorektal hastalarının kötü prognostik bir alt kümesini tanımladığı gösterilmiştir (Nilsson, Lof-Ohlin ve Sun, 2013), MGMT metilasyonunun ise tam tersi koruyucu bir rol oynadığı (Nilsson, Lof-Ohlin ve Sun, 2013) ve MLH1'in hipermetilasyon yoluyla inaktivasyonunun iyileştirilmiş sağkalım ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Jensen ve diğerleri, 2013). Farklı meta-analiz sonuçları, p16 hipermetilasyonunun kolorektal kanser hastalarının olumsuz prognozu için öngörücü bir faktör olabileceğini göstermiştir (Xing ve diğerleri, 2013). Homeodomain gen $x-\beta$ (hopx- β) promotör metilasyonu, yakın zamanda insan kanserlerinde rapor edilmiştir ve bir tümör baskılayıcı gen olarak hareket ettiği öne sürülmüştür. Özellikle, hopx- β promotör metilasyonu, evre 3 kolorektal kanser hastalarının daha kötü prognozu ile ilişkilendirilmiştir. IGFBP3, EVL, CD109 ve FLNC gibi hücre dışı matris (ECM) yolundaki genlerin metilasyonu, düşük sağkalım ile ilişkilendirilmiş, bu yolaktaki metilasyonunun kolorektal kanserin prognostik bir belirteci olabileceğini bildirilmiştir (Yi ve diğerleri, 2011). Benzer şekilde, kolorektal tümörlerde insülin büyüme faktörü 2'nin (IGF2) diferansiyel olarak metillenmiş bölge hipometilasyonu kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (Baba ve diğerleri, 2010). SFRP1, MYOD1, HIC1 ve SLIT2 dahil olmak üzere polycomb grup hedef genlerinin (PCGT) metilasyonu, CIMP olmayan erkek hastalarda olumlu bir prognoza yol açtığı tespit edilmiştir (Dallol ve diğerleri, 2012).

Kolorektal kanserin lenfatik vasküler istilası, stromal hücrelerde asidik ve sisteinden zengin (SPARC) olarak salgılanan proteini kodlayan genin metilasyonu ile ilgili olduğu bildirilmiştir (Yoshimura ve diğerleri, 2011). Kolonoskopi yapılan hastalardan alınan mukozal lavaj sıvısındaki DNA metilasyonunu araştırılmış ve mikroRNA metilasyonunun (miR-34b/c) en çok invaziv tümörler ile korele olduğunu gözlemlenmiştir (Kamimae ve diğerleri, 2011). Kolorektal kanser örneklerinde miR-128'in metilasyonu, hedef gen NEK2'nin

upregülasyonu ile sonuçlanarak lenfatik invazyon ve periton yayılımına yol açtığı bulunmuştur (Takahashi ve diğerleri, 2014). miR-126'nın ise epigenetik susturulmasının, kolorektal kanserde tümör istilasımı ve anjiyogenezi desteklediği gösterilmiştir (Zhang ve diğerleri, 2010).

3.9 Kolorektal Kanserde Kemoterapi Tedavisi ve Metilasyon Biyobelirteçleri

Kolorektal kanserde epigenetik işaretler, kemoterapi ajanları ile olası etkileşimleri nedeniyle de ilgi çekicidir. Gerçekten de, belirli bir genin epigenetik susturulması, belirli bir terapötik maddeye karşı kemosensitiviteye veya kemo-dirence yol açabilmektedir (Crea ve diğerleri, 2011). Anormal metilasyon profile gösteren kolorektal kanseri 5-fu, irinotekan ve oksalipatine karşı kemosensitiviteye veya kemorezistansa katkıda bulunabilecek bir yapıya sahip olabilmektedir. Kolorektal kanser tedavisinde kullanılan ilaçların çoğu, 5-fu'nun antitümör aktivitesi esas olarak pirimidinlerin de novo sentezinde timidilat sentezini inhibe etme prensibine göre uygulanır. Artan tümör aktivitesi, 5-fu kemo-direncinin ana mekanizmalarından biridir ve kolorektal kanserin epigenetik düzenlenmesinde promotör dna metilasyonundan ziyade histon asetilasyon/deasetilasyon süreçlerinin rol oynayabileceğine dair göstergeler mevcuttur. Pirimidin metabolizmasında yer alan diğer birkaç gen, dihidropirimidin dehidrojenaz (DYPD), timidin fosforilaz (TYMP) ve üridin monofosfat/sitidin monofosfat kinaz (UMPK) dahil olmak üzere 5-fu kemo-direncinin potansiyel moleküler belirleyicilerini temsil edebilmektedir. Kolorektal kanser hastalarında 5-fu direncininin potansiyel epigenetik katkıları halen araştırılmaktadır (Crea ve diğerleri, 2011). Ap-2 epsilon transkripsiyon faktörünü (TFAP2E) kodlayan genin hipermetilasyonu, kolorektal kanser hastalarının %51'inde bulunmuştur ve birçok hastada kemoterapinin (5-fu, irinotekan veya oksaliplatin) klinik yanıt eksikliği nedeni olarak belirlenmiştir (Ebert ve diğerleri, 2012). Fonksiyonel çalışmalar, TFAP2E kemorezistansının, Dickkopf Homolog 4 (DKK4) proteinini kodlayan hedef geni yine DKK4 aracılığıyla regüle ettiğini ortaya koymaktadır (Ebert ve diğerleri, 2012).

Standart tedaviler (oksaliplatin, irinotekan, 5-fu veya wild-tip KRAS durumunda setuksimab veya panitumumab) ile ilerleme kaydedilemeyen kolorektal kanser hastalarında, tedavi uyumsuzlukları sonucu antitümör aktivitesini bir alkilleyici ajan olarak gösteren dakarbazin ile tedavi denenmiştir (Amatu ve diğerleri, 2013). MGMT geninin hipermetilasyonu, kolorektal kanser hastalarının yaklaşık %40'ında meydana gelmekte ve dakarbazine verilen hastaların klinik yanıtları MGMT geninin epigenetik susturulması ile sonuçlanmaktadır (Sawada ve diğerleri, 2013). Bu genetik sapmalar sonucu, DNA metilasyonunun kolorektal kanserin gelişiminde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur. Bilimsel yaklaşımlar, kolorektal kanserin farklı kromozomal lokasyonlarda alelik dengesizlik (kopya sayısı değişikliği) dahil olmak üzere çoklu genetik değişiklikler gösterdiğini bildirmektedir. TP53, KRAS, BRAF ve PI3K mutasyonları ile birlikte, kromozom 3q26.1, 4q13.2, 6q21.32, 7q34, 8p12-23.3, 15q ve 18 üstündeki genomik kayıplar ve kazançlar yaygın olarak bulunmuştur. Ayrıca, kopya sayısı değişikliklerinin toplam sayısı, anormal DNA metilasyonu ile önemli ölçüde ilişkili olarak bulunmuştur (Sawada ve diğerleri, 2013). Benzer şekilde, transkripsiyonel analizler, kolorektal kanser dokularında muhtemelen promotör metilasyonu yoluyla ekspresyonu değişen binlerce geni ortaya çıkarmıştır (Spisak ve diğerleri, 2012).

4. SONUÇ VE ÖNERİ

Genellikle araştırmaların amacı, kolorektal kanserin pratik, uygun maliyetli ve invaziv olmayan tanısını mümkün kılabilecek biyobelirteçleri belirlemek ve ayrıca hasta prognozunu ve en iyi tedavi seçimi daha iyi tanımlamak için hangi biyobelirteç ve biyobelirteçlerin kullanılabileceğini keşfetmektir. Mevcut yaklaşımlar hastalığın daha hızlı ve önceden teşhisi, prognostik ve terapötik yaklaşım için genetik ve epigenetik verileri birleştirme ihtiyacını ortaya koymaktadır. Bu verileri transkriptom ve proteom profilleri ile entegre ederek kolorektal kanserde yer alan moleküler yolları daha iyi anlamak ve hastaların yaşam kalitesini ve konforunu iyileştirmek için değerli stratejileri ortaya çıkarmak hedeflenmelidir.

KAYNAKÇA

- Alhopuro, P., Alazzouzi, H., Sammalkorpi, H., Davalos, V., Salovaara, R., Hemminki, A., Jarvinen, H., Mecklin, J. P., Schwartz, S., Jr., Aaltonen, L. A.ve Arango, D. (2005). SMAD4 levels and response to 5-fluorouracil in colorectal cancer. *Clin Cancer Res*, 11(17), 6311-6.
- Amatu, A., Sartore-Bianchi, A., Moutinho, C., Belotti, A., Bencardino, K., Chirico, G., Cassingena, A., Rusconi, F., Esposito, A., Nichelatti, M., Esteller, M.ve Siena, S. (2013). Promoter CpG island hypermethylation of the DNA repair enzyme MGMT predicts clinical response to dacarbazine in a phase II study for metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res*, 19(8), 2265-72.
- Baba, Y., Nosh, K., Shima, K., Huttenhower, C., Tanaka, N., Hazra, A., Giovannucci, E. L., Fuchs, C. S.ve Ogino, S. (2010). Hypomethylation of the IGF2 DMR in colorectal tumors, detected by bisulfite pyrosequencing, is associated with poor prognosis. *Gastroenterology*, 139(6), 1855-64.
- Bazan, V., Migliavacca, M., Zanna, I., Tubiolo, C., Grassi, N., Latteri, M. A., La Farina, M., Albanese, I., Dardanoni, G., Salerno, S., Tomasino, R. M., Labianca, R., Gebbia, N.ve Russo, A. (2002). Specific codon 13 K-ras mutations are predictive of clinical outcome in colorectal cancer patients, whereas codon 12 K-ras mutations are associated with mucinous histotype. *Ann Oncol*, 13(9), 1438-46.
- Benatti, P., Gafa, R., Barana, D., Marino, M., Scarselli, A., Pedroni, M., Maestri, I., Guerzoni, L., Roncucci, L., Menigatti, M., Roncari, B., Maffei, S., Rossi, G., Ponti, G., Santini, A., Losi, L., Di Gregorio, C., Oliani, C., Ponz De Leon, M.ve Lanza, G. (2005). Microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *Clin Cancer Res*, 11(23), 8332-40.
- Bokemeyer C, Bondarenko I, Hartmann JT, de Braud F, Schuch G, Zubel A, Celik I, Schlichting M, Koralewski P. Efficacy according to biomarker status of cetuximab plus FOLFOX-4 as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the OPUS

- study. *Ann Oncol.* 2011;22:1535–1546. [PubMed] [Google Scholar].
- Bolocan, A., Ion, D., Ciocan, D. N.ve Paduraru, D. N. (2012). Prognostic and predictive factors in colorectal cancer. *Chirurgia (Bucur)*, 107(5), 555-63.
- Crea, F., Nobili, S., Paolicchi, E., Perrone, G., Napoli, C., Landini, I., Danesi, R.ve Mini, E. (2011). Epigenetics and chemoresistance in colorectal cancer: an opportunity for treatment tailoring and novel therapeutic strategies. *Drug Resist Updat*, 14(6), 280-96.
- Cushman-Vokoun, A. M., Stover, D. G., Zhao, Z., Koehler, E. A., Berlin, J. D.ve Vnencak-Jones, C. L. (2013). Clinical utility of KRAS and BRAF mutations in a cohort of patients with colorectal neoplasms submitted for microsatellite instability testing. *Clin Colorectal Cancer*, 12(3), 168-78.
- Dallol, A., Al-Maghrabi, J., Buhmeida, A., Gari, M. A., Chaudhary, A. G., Schulten, H. J., Abuzenadah, A. M., Al-Ahwal, M. S., Sibiany, A.ve Al-Qahtani, M. H. (2012). Methylation of the polycomb group target genes is a possible biomarker for favorable prognosis in colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 21(11), 2069-75.
- De Roock, W., Claes, B., Bernasconi, D., De Schutter, J., Biesmans, B., Fountzilas, G., Kalogeras, K. T., Kotoula, V., Papamichael, D., Laurent-Puig, P., Penault-Llorca, F., Rougier, P., Vincenzi, B., Santini, D., Tonini, G., Cappuzzo, F., Frattini, M., Molinari, F., Saletti, P., De Dosso, S., Martini, M., Bardelli, A., Siena, S., Sartore-Bianchi, A., Tabernero, J., Macarulla, T., Di Fiore, F., Gangloff, A. O., Ciardiello, F., Pfeiffer, P., Qvortrup, C., Hansen, T. P., Van Cutsem, E., Piessevaux, H., Lambrechts, D., Delorenzi, M.ve Tejpar, S. (2010). Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. *Lancet Oncol*, 11(8), 753-62.
- Devaud, N.ve Gallinger, S. (2013). Chemotherapy of MMR-deficient colorectal cancer. *Fam Cancer*, 12(2), 301-6.

- Ebert, M. P., Tanzer, M., Balluff, B., Burgermeister, E., Kretzschmar, A. K., Hughes, D. J., Tetzner, R., Lofton-Day, C., Rosenberg, R., Reinacher-Schick, A. C., Schulmann, K., Tannapfel, A., Hofheinz, R., Rocken, C., Keller, G., Langer, R., Specht, K., Porschen, R., Stohlmacher-Williams, J., Schuster, T., Strobel, P.ve Schmid, R. M. (2012). TFAP2E-DKK4 and chemoresistance in colorectal cancer. *N Engl J Med*, 366(1), 44-53.
- Fearon, E. R.ve Vogelstein, B. (1990). A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 61(5), 759-67.
- Feinberg, A. P.ve Vogelstein, B. (1983). Hypomethylation of ras oncogenes in primary human cancers. *Biochem Biophys Res Commun*, 111(1), 47-54.
- Fleming, N. I., Jorissen, R. N., Mouradov, D., Christie, M., Sakthianandeswaren, A., Palmieri, M., Day, F., Li, S., Tsui, C., Lipton, L., Desai, J., Jones, I. T., McLaughlin, S., Ward, R. L., Hawkins, N. J., Ruszkiewicz, A. R., Moore, J., Zhu, H. J., Mariadason, J. M., Burgess, A. W., Busam, D., Zhao, Q., Strausberg, R. L., Gibbs, P.ve Sieber, O. M. (2013). SMAD2, SMAD3 and SMAD4 mutations in colorectal cancer. *Cancer Res*, 73(2), 725-35.
- Goel, A., Nagasaka, T., Arnold, C. N., Inoue, T., Hamilton, C., Niedzwiecki, D., Compton, C., Mayer, R. J., Goldberg, R., Bertagnolli, M. M.ve Boland, C. R. (2007). The CpG island methylator phenotype and chromosomal instability are inversely correlated in sporadic colorectal cancer. *Gastroenterology*, 132(1), 127-38.
- Gonzalez-Gonzalez, M., Munoz-Bellvis, L., Mackintosh, C., Fontanillo, C., Gutierrez, M. L., Abad, M. M., Bengoechea, O., Teodosio, C., Fonseca, E., Fuentes, M., De Las Rivas, J., Orfao, A.ve Sayagues, J. M. (2012). Prognostic Impact of del(17p) and del(22q) as assessed by interphase FISH in sporadic colorectal carcinomas. *PLoS One*, 7(8), e42683.

- Grady, W. M.ve Carethers, J. M. (2008). Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology*, 135(4), 1079-99.
- Grutzmann, R., Molnar, B., Pilarsky, C., Habermann, J. K., Schlag, P. M., Saeger, H. D., Miehke, S., Stolz, T., Model, F., Roblick, U. J., Bruch, H. P., Koch, R., Liebenberg, V., Devos, T., Song, X., Day, R. H., Sledziewski, A. Z.ve Lofton-Day, C. (2008). Sensitive detection of colorectal cancer in peripheral blood by septin 9 DNA methylation assay. *PLoS One*, 3(11), e3759.
- Harrison, S.ve Benziger, H. (2011). The molecular biology of colorectal carcinoma and its implications: a review. *Surgeon*, 9(4), 200-10.
- Hibi K, Sakata M, Yokomizi K, Kitamura YH, Sakuraba K, Shirahata R, Goto T, Mizukami H, Saito M, Ishibashi K, et al. Methylation of the WNT5A gene is frequently detected in early gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology*. 2012;59:2661–2663. [PubMed] [Google Scholar].
- <https://Seer.Cancer.Gov/Statfacts/Html/Colorect.Html>.
- Huh, J. W., Kim, H. R.ve Kim, Y. J. (2013). Prognostic role of p53 messenger ribonucleic acid expression in patients after curative resection for stage I to III colorectal cancer: association with colon cancer stem cell markers. *J Am Coll Surg*, 216(6), 1063-9.
- Itzkowitz, S., Brand, R., Jandorf, L., Durkee, K., Millholland, J., Rabeneck, L., Schroy, P. C., 3rd, Sontag, S., Johnson, D., Markowitz, S., Paszat, L.ve Berger, B. M. (2008). A simplified, noninvasive stool DNA test for colorectal cancer detection. *Am J Gastroenterol*, 103(11), 2862-70.
- Jensen, L. H., Rasmussen, A. A., Byriel, L., Kuramochi, H., Cruger, D. G., Lindebjerg, J., Danenberg, P. V., Jakobsen, A.ve Danenberg, K. (2013). Regulation of MLH1 mRNA and protein expression by promoter methylation in primary colorectal cancer: a descriptive and prognostic cancer marker study. *Cell Oncol (Dordr)*, 36(5), 411-9.
- Kamimae, S., Yamamoto, E., Yamano, H. O., Nojima, M., Suzuki, H., Ashida, M., Hatahira, T., Sato, A., Kimura, T., Yoshikawa, K.,

- Harada, T., Hayashi, S., Takamaru, H., Maruyama, R., Kai, M., Nishiwaki, M., Sugai, T., Sasaki, Y., Tokino, T., Shinomura, Y., Imai, K. ve Toyota, M. (2011). Epigenetic alteration of DNA in mucosal wash fluid predicts invasiveness of colorectal tumors. *Cancer Prev Res (Phila)*, 4(5), 674-83.
- Karapetis, C. S., Khambata-Ford, S., Jonker, D. J., O'callaghan, C. J., Tu, D., Tebbutt, N. C., Simes, R. J., Chalchal, H., Shapiro, J. D., Robitaille, S., Price, T. J., Shepherd, L., Au, H. J., Langer, C., Moore, M. J. ve Zalberg, J. R. (2008). K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med*, 359(17), 1757-65.
- Kirvela, O. ve Nieminen, S. (1990). Treatment of painful neuromas with neurolytic blockade. *Pain*, 41(2), 161-165.
- Lange, C. P. ve Laird, P. W. (2013). Clinical applications of DNA methylation biomarkers in colorectal cancer. *Epigenomics*, 5(2), 105-8.
- Lech, G., Slotwinski, R. ve Krasnodebski, I. W. (2014). The role of tumor markers and biomarkers in colorectal cancer. *Neoplasma*, 61(1), 1-8.
- Liang, J., Lin, C., Hu, F., Wang, F., Zhu, L., Yao, X., Wang, Y. ve Zhao, Y. (2013). APC polymorphisms and the risk of colorectal neoplasia: a HuGE review and meta-analysis. *Am J Epidemiol*, 177(11), 1169-79.
- Liao, X., Lochhead, P., Nishihara, R., Morikawa, T., Kuchiba, A., Yamauchi, M., Imamura, Y., Qian, Z. R., Baba, Y., Shima, K., Sun, R., Nosho, K., Meyerhardt, J. A., Giovannucci, E., Fuchs, C. S., Chan, A. T. ve Ogino, S. (2012). Aspirin use, tumor PIK3CA mutation, and colorectal-cancer survival. *N Engl J Med*, 367(17), 1596-606.
- Losso, G. M., Moraes Rda, S., Gentili, A. C. ve Messias-Reason, I. T. (2012). Microsatellite instability--MSI markers (BAT26, BAT25, D2S123, D5S346, D17S250) in rectal cancer. *Arq Bras Cir Dig*, 25(4), 240-4.
- Mao, C., Yang, Z. Y., Hu, X. F., Chen, Q. ve Tang, J. L. (2012). PIK3CA exon 20 mutations as a potential biomarker for

resistance to anti-EGFR monoclonal antibodies in KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Ann Oncol*, 23(6), 1518-25.

- Munoz-Bellvis, L., Fontanillo, C., Gonzalez-Gonzalez, M., Garcia, E., Iglesias, M., Esteban, C., Gutierrez, M. L., Abad, M. M., Bengoechea, O., De Las Rivas, J., Orfao, A.ve Sayagues, J. M. (2012). Unique genetic profile of sporadic colorectal cancer liver metastasis versus primary tumors as defined by high-density single-nucleotide polymorphism arrays. *Mod Pathol*, 25(4), 590-601.
- Nakao, M., Kawauchi, S., Uchiyama, T., Adachi, J., Ito, H., Chochi, Y., Furuya, T., Oga, A.ve Sasaki, K. (2011). DNA copy number aberrations associated with the clinicopathological features of colorectal cancers: Identification of genomic biomarkers by array-based comparative genomic hybridization. *Oncol Rep*, 25(6), 1603-11.
- Nilsson, T. K., Lof-Ohlin, Z. M.ve Sun, X. F. (2013). DNA methylation of the p14ARF, RASSF1A and APC1A genes as an independent prognostic factor in colorectal cancer patients. *Int J Oncol*, 42(1), 127-33.
- Peeters, M., Price, T. J., Cervantes, A., Sobrero, A. F., Ducreux, M., Hotko, Y., Andre, T., Chan, E., Lordick, F., Punt, C. J., Strickland, A. H., Wilson, G., Ciuleanu, T. E., Roman, L., Van Cutsem, E., Tzekova, V., Collins, S., Oliner, K. S., Rong, A.ve Gansert, J. (2010). Randomized phase III study of panitumumab with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) compared with FOLFIRI alone as second-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*, 28(31), 4706-13.
- Rhee, Y. Y., Kim, M. J., Bae, J. M., Koh, J. M., Cho, N. Y., Juhn, Y. S., Kim, D.ve Kang, G. H. (2012). Clinical outcomes of patients with microsatellite-unstable colorectal carcinomas depend on L1 methylation level. *Ann Surg Oncol*, 19(11), 3441-8.
- Rosty, C., Young, J. P., Walsh, M. D., Clendenning, M., Sanderson, K., Walters, R. J., Parry, S., Jenkins, M. A., Win, A. K., Southey,

- M. C., Hopper, J. L., Giles, G. G., Williamson, E. J., English, D. R.ve Buchanan, D. D. (2013). PIK3CA activating mutation in colorectal carcinoma: associations with molecular features and survival. *PLoS One*, 8(6), e65479.
- Roth, A. D., Delorenzi, M., Tejpar, S., Yan, P., Klingbiel, D., Fiocca, R., D'ario, G., Cisar, L., Labianca, R., Cunningham, D., Nordlinger, B., Bosman, F.ve Van Cutsem, E. (2012). Integrated analysis of molecular and clinical prognostic factors in stage II/III colon cancer. *J Natl Cancer Inst*, 104(21), 1635-46.
- Sargent, D. J., Marsoni, S., Monges, G., Thibodeau, S. N., Labianca, R., Hamilton, S. R., French, A. J., Kabat, B., Foster, N. R., Torri, V., Ribic, C., Grothey, A., Moore, M., Zaniboni, A., Seitz, J. F., Sinicrope, F.ve Gallinger, S. (2010). Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol*, 28(20), 3219-26.
- Sastre, J., Aranda, E., Gravalos, C., Massuti, B., Varella-Garcia, M., Rivera, F., Soler, G., Carrato, A., Manzano, J. L., Diaz-Rubio, E.ve Hidalgo, M. (2011). First-line single-agent cetuximab in elderly patients with metastatic colorectal cancer. A phase II clinical and molecular study of the Spanish group for digestive tumor therapy (TTD). *Crit Rev Oncol Hematol*, 77(1), 78-84.
- Sawada, T., Yamamoto, E., Suzuki, H., Nojima, M., Maruyama, R., Shioi, Y., Akasaka, R., Kamimae, S., Harada, T., Ashida, M., Kai, M., Adachi, Y., Yamamoto, H., Imai, K., Toyota, M., Itoh, F.ve Sugai, T. (2013). Association between genomic alterations and metastatic behavior of colorectal cancer identified by array-based comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer*, 52(2), 140-9.
- Scaltriti, M.ve Baselga, J. (2006). The epidermal growth factor receptor pathway: a model for targeted therapy. *Clin Cancer Res*, 12(18), 5268-72.
- Shull, A. Y., Clendenning, M. L., Ghoshal-Gupta, S., Farrell, C. L., Vangapandu, H. V., Dudas, L., Wilkerson, B. J.ve Buckhaults,

- P. J. (2013). Somatic mutations, allele loss, and DNA methylation of the Cub and Sushi Multiple Domains 1 (CSMD1) gene reveals association with early age of diagnosis in colorectal cancer patients. *PLoS One*, 8(3), e58731.
- Sinicrope, F. A., Foster, N. R., Thibodeau, S. N., Marsoni, S., Monges, G., Labianca, R., Kim, G. P., Yothers, G., Allegra, C., Moore, M. J., Gallinger, S.ve Sargent, D. J. (2011). DNA mismatch repair status and colon cancer recurrence and survival in clinical trials of 5-fluorouracil-based adjuvant therapy. *J Natl Cancer Inst*, 103(11), 863-75.
- Soeda, H., Shimodaira, H., Watanabe, M., Suzuki, T., Gamoh, M., Mori, T., Komine, K., Iwama, N., Kato, S.ve Ishioka, C. (2013). Clinical usefulness of KRAS, BRAF, and PIK3CA mutations as predictive markers of cetuximab efficacy in irinotecan- and oxaliplatin-refractory Japanese patients with metastatic colorectal cancer. *Int J Clin Oncol*, 18(4), 670-7.
- Sood, A., McClain, D., Maitra, R., Basu-Mallick, A., Seetharam, R., Kaubisch, A., Rajdev, L., Mariadason, J. M., Tanaka, K.ve Goel, S. (2012). PTEN gene expression and mutations in the PIK3CA gene as predictors of clinical benefit to anti-epidermal growth factor receptor antibody therapy in patients with KRAS wild-type metastatic colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer*, 11(2), 143-50.
- Spisak, S., Kalmar, A., Galamb, O., Wichmann, B., Sipos, F., Peterfia, B., Csabai, I., Kovalszky, I., Semsey, S., Tulassay, Z.ve Molnar, B. (2012). Genome-wide screening of genes regulated by DNA methylation in colon cancer development. *PLoS One*, 7(10), e46215.
- Takahashi, Y., Iwaya, T., Sawada, G., Kurashige, J., Matsumura, T., Uchi, R., Ueo, H., Takano, Y., Eguchi, H., Sudo, T., Sugimachi, K., Yamamoto, H., Doki, Y., Mori, M.ve Mimori, K. (2014). Up-regulation of NEK2 by microRNA-128 methylation is associated with poor prognosis in colorectal cancer. *Ann Surg Oncol*, 21(1), 205-12.

- Ting, W. C., Chen, L. M., Pao, J. B., Yang, Y. P., You, B. J., Chang, T. Y., Lan, Y. H., Lee, H. Z. ve Bao, B. Y. (2013). Common genetic variants in Wnt signaling pathway genes as potential prognostic biomarkers for colorectal cancer. *PLoS One*, 8(2), e56196.
- Tol, J., Dijkstra, J. R., Klomp, M., Teerenstra, S., Dommerholt, M., Vink-Borger, M. E., Van Cleef, P. H., Van Krieken, J. H., Punt, C. J. ve Nagtegaal, I. D. (2010). Markers for EGFR pathway activation as predictor of outcome in metastatic colorectal cancer patients treated with or without cetuximab. *Eur J Cancer*, 46(11), 1997-2009.
- Toyota, M. ve Suzuki, H. (2010). Epigenetic drivers of genetic alterations. *Adv Genet*, 70, 309-23.
- Tural, D., Batur, S., Erdamar, S., Akar, E., Kepil, N., Mandel, N. M. ve Serdengecti, S. (2014). Analysis of PTEN, BRAF and PI3K status for determination of benefit from cetuximab therapy in metastatic colorectal cancer patients refractory to chemotherapy with wild-type KRAS. *Tumour Biol*, 35(2), 1041-9.
- Tzeng, S. T., Tsai, M. H., Chen, C. L., Lee, J. X., Jao, T. M., Yu, S. L., Yen, S. J. ve Yang, Y. C. (2013). NDST4 is a novel candidate tumor suppressor gene at chromosome 4q26 and its genetic loss predicts adverse prognosis in colorectal cancer. *PLoS One*, 8(6), e67040.
- Van Cutsem, E., Kohne, C. H., Lang, I., Folprecht, G., Nowacki, M. P., Cascinu, S., Shchepotin, I., Maurel, J., Cunningham, D., Tejpar, S., Schlichting, M., Zubel, A., Celik, I., Rougier, P. ve Ciardiello, F. (2011). Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status. *J Clin Oncol*, 29(15), 2011-9.
- Walther A, Houlston R, Tomlinson I. Association between chromosomal instability and prognosis in colorectal cancer: a meta-analysis. *Gut*. 2008;57:941–950. [PubMed] [Google Scholar].

- Walther, A., Houlston, R. ve Tomlinson, I. (2008). Association between chromosomal instability and prognosis in colorectal cancer: a meta-analysis. *Gut*, 57(7), 941-50.
- Watanabe, T., Kobunai, T., Yamamoto, Y., Konishi, T., Yano, H., Iinuma, H., Hayama, T., Nozawa, K., Ishihara, S. ve Matsuda, K. (2010). Prognostic significance of 18q loss of heterozygosity in microsatellite-stable colorectal cancer. *J Clin Oncol*, 28(7), e119; author reply e120.
- Xing, X., Cai, W., Shi, H., Wang, Y., Li, M., Jiao, J. ve Chen, M. (2013). The prognostic value of CDKN2A hypermethylation in colorectal cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer*, 108(12), 2542-8.
- Yi, J. M., Dhir, M., Van Neste, L., Downing, S. R., Jeschke, J., Glockner, S. C., De Freitas Calmon, M., Hooker, C. M., Funes, J. M., Boshoff, C., Smits, K. M., Van Engeland, M., Weijnenberg, M. P., Iacobuzio-Donahue, C. A., Herman, J. G., Schuebel, K. E., Baylin, S. B. ve Ahuja, N. (2011). Genomic and epigenomic integration identifies a prognostic signature in colon cancer. *Clin Cancer Res*, 17(6), 1535-45.
- Yoshimura, T., Nagahara, M., Kuo, C., Turner, R. R., Soon-Shiong, P. ve Hoon, D. S. (2011). Lymphovascular invasion of colorectal cancer is correlated to SPARC expression in the tumor stromal microenvironment. *Epigenetics*, 6(8), 1001-11.
- You, J. S. ve Jones, P. A. (2012). Cancer genetics and epigenetics: two sides of the same coin? *Cancer Cell*, 22(1), 9-20.
- Zhang, B., Halder, S. K., Kashikar, N. D., Cho, Y. J., Datta, A., Gorden, D. L. ve Datta, P. K. (2010). Antimetastatic role of Smad4 signaling in colorectal cancer. *Gastroenterology*, 138(3), 969-80 e1-3.
- Zhao, L. ve Vogt, P. K. (2008). Helical domain and kinase domain mutations in p110alpha of phosphatidylinositol 3-kinase induce gain of function by different mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(7), 2652-7.

BÖLÜM 7
PSİKOLOJİK İLK YARDIMI ANLAMAK
Öğr. Gör. Dr. Aynur BAHAR¹

¹ Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Psikiyatri Hemşireliği ABD, Gaziantep, Türkiye. abahar@gantep.edu.tr, Orcid ID: 0000-0001-5356-0501

“Korkunç şeyler olduğunda, etkilenenlere yardım eli uzatmak istiyoruz. Psikolojik İlk Yardım, ciddi stres faktörlerine maruz kalan ve desteğe ihtiyacı olabilecek kişilere insancıl, destekleyici ve pratik bir müdahaledir. İnsanların isteklerine, kültürlerine, haysiyetlerine ve yeteneklerine saygılı bir şekilde temel ihtiyaçlarına cevap vererek ve onlara ilgi ve özen göstererek iyileşmelerine yardımcı olan bir yaklaşımdır.”

*Psychological First Aid Brief,
World Health Organisation for World Mental Health Day 2016.*

GİRİŞ

Felaketler her geçen gün daha fazla insanı etkilenmekte; bireylerin ekonomik, sosyal ve psikolojik olmak pek çok yönden zarar görmesine sebep olmaktadır (Doğan & Erdur, 2014). Travma sonrası oluşan psikolojik etkilenme, yaşam kalitesini uzun bir süre etkisi altına almaktadır. Afet sonrası oluşan fiziksel ve maddi kayıplar, olumsuz çevre koşulları, yaralanma ve ölümler ruh sağlığına yönelik olumsuz durumları beraberinde getirmekte; uzun dönemde majör depresyon gibi farklı psikopatolojilerin görülmesine neden olabilmektedir. Bunların yanında aile içinde ve toplumsal boyutta çok farklı etkilerin olabileceği de yadsınmamalıdır (Bullock & Coppola, 2016).

Teknolojideki gelişmeler ve sanayileşme, doğal ve insan kaynaklı afetlerin oranını artırmaktadır. Ayrıca savaş ve göç gibi durumların neden olduğu nüfus yoğunluğu da, afet kaynaklı kayıplarda artışa neden olabilir (Seyedin et al., 2015; Coppola, 2011). Kriz durumlarında insanlar neye ihtiyaçları olduğunun ve nereden yardım arayacaklarının farkında olamayabilir, kendilerini zayıf ve güçsüz hissedebilir, yargılanacaklarını düşünebilirler. Stres yaşayan, desteğe ve yardıma ihtiyaç duyan bu kişilere insani ve destekleyici müdahalelerde bulunmak temel yaklaşım olmalıdır.

Felaketlerin ardından psikososyal iyileşmede psikolojik ilk yardım birinci basamak yaklaşım olarak benimsenmelidir. Son yıllarda yaşanan salgınlar da psikolojik ilk yardımın önemini ortaya koymada oldukça etkili olmuştur. Örneğin SARS salgınında psikolojik ilk yardım, olumsuz etkilere neden olmadan ve insanların mevcut durumunu

bozmadan hem sağlık çalışanlarının hem de nüfusun stres ve kaygısını yönetmede fayda sağlamıştır (Maunder et al., 2008). COVID-19 salgını da artan ölüm ve hastalık oranı nedeniyle, hem enfekte hem de enfekte olmayan popülasyonlarda stres, korku ve çaresizlik yaşanmasına sebep olmuştur. COVID-19 gibi afetlerde bir ruh sağlığı dalgalanması ile karşı karşıya kalındığında, stresle başa ıkımda psikolojik ilk yardım önemli ve yararlı olmuştur (Dong & Bouey, 2020; Shah et al., 2020a). Psikolojik ilk yardım, küresel olarak kişilerarası ayrılıklar, sosyoekonomik faaliyetlerin durgunluğu ve ölümler nedeniyle enfeksiyon korkularından kaynaklanan yoğun zihinsel stres ve psikolojik sıkıntıyı yönetmeye yardımcıdır (Shah et al. 2020b).

1.PSİKOLOJİK İLK YARDIM

1.1.Psikolojik İlk Yardımın nemi

Psikolojik ilk yardım (PİY), sıkıntı içindeki insanlara onurlarına, kültürlerine ve yeteneklerine saygı duyacak şekilde insancıl, destekleyici ve pratik yardımı içeren kanıt dayalı bir yaklaşımdır (WHO, 2013).

Birleşmiş Milletler (2020), acil ruh sağlığı veya kriz müdahale hizmetlerinin yalnızca n saflardaki çalışanlara değil, aynı zamanda tüm toplum için sürekli bakım yaklaşımı içinde yaygın olarak sağlanması, ruh sağlığı ve sosyal bakım sağlamak için insan kaynakları kapasitesinin oluşturulmasını tavsiye etmiştir (United Nations, 2020).

Psikolojik ilk yardım uygulamaları, felaket sırasında ya da sonrasında kişilerin temel fiziksel ve psikolojik ihtiyaçlarının karşılanmasını; yaşanan travmanın bireyler üzerindeki etkilerini ve olası travma sonrası stres semptomlarını en aza indirmeyi; işlevselliği ve baş etmeyi desteklemeyi, sağlıklı bir iyileşmeye yardımcı olmayı hedeflemektedir (Brymer et al., 2006; WHO, 2011). PİY hedeflerinden hareketle temel noktanın travmatik olayların neden olduğu ilk sıkıntıyı azaltmak ve kısa yada uzun vadeli uyumlu işleyişi teşvik etmek olduğu söylenebilir (Brymer et al., 2006). PİY müdahalelerini bu yönüyle koruyucu ruh sağlığı uygulaması olarak da değerlendirmek mümkündür.

İnsanların zor deneyimlere nasıl tepki verecekleri, deneyimin doğasına, dayanıklılıklarına, yaşlarına ve kişiliklerine, destek sistemlerine ve olağan başa çıkma yöntemlerine, olayın üzerinden ne kadar zaman geçtiğine ve önceki deneyimlere bağlıdır (Australian Red Cross, 2020). PİY, temel ihtiyaçları karşılandığında ve gerekli destek sağlandığında stresli olaylarla baş edebilecekleri varsayımından hareketle, afetlerden etkilenen bireylerin göstermiş oldukları reaksiyonları anlamaya odaklanmaktadır (Snider et al., 2012; Shultz & Forbes, 2013). PİY, geleneksel psikiyatrik veya profesyonel ruhsal tedavi değil, travmatik veya acil bir olaydan etkilenenlere ek destek sağlayarak stres tepkilerini azaltmaya yönelik bir stratejidir.

Acil bir durum yaşayan herkesin kriz sırasında veya sonrasında duygusal sıkıntı veya problem yaşamayacağını hatırlamak önemlidir. İyi düzeyde işlevsellik, sosyal destek, başa çıkma yeteneği, güçlü ahlaki inanç sistemleri, normal hayata dönüş gibi durumlarda psikolojik ilk yardıma ihtiyaç olmayacaktır (Australian Red Cross, 2020).

1.2.Psikolojik İlk Yardımın Tarihsel Süreci

“Psikolojik İlk Yardım” terimi ilk kez 1944'te Amerikan Psikiyatri Birliği'nin (APA) yüzüncü yıl dönümü toplantısında, daha sonra ise 1945'te American Journal of Psychiatry'de yayınlanan bir makalede yer almıştır (Blain et al., 1945). PİY, II. Dünya Savaşı sırasında Birleşik Devletler Deniz Kuvvetleri için geliştirilen ve denizde psikolojik sıkıntının tehlikelerini -“savaş stresi”- kabul eden bir müfredat bağlamındaydı ve farkındalık, stres yönetimi yoluyla kısa ve uzun vadede stres etkisini azaltmaya yardımcı olmayı amaçlamıştı.

1950'lerde, PİY kavramı genişletildi (Everly & Lating, 2021). Thorne (1952), akut sıkıntıyı hafifletmek ve kronik sıkıntı sendromlarının gelişimini potansiyel olarak önlemek için daha ayrıntılı 'eylem mekanizmaları' öne sürmüştür. Thorne (1952)' un önerdiği müdahaleler arasında güvence (ilk yardım çabalarının merkezinde hastaların korkuları ve sorunlarıyla ilgili); öneri (acil müdahale gerektiren psikolojik belirtilerle başa çıkmak için); katarsis (duyguların yansımaları ve netleştirilmesini içerir); ve ikna, tavsiye ve diğer

destekleyici yöntemler (hasta kaynaklarının ötesindeki akut durumsal zorluklarla başa çıkmak için) bulunmaktadır (Everly & Lating, 2021).

1954'te ise Amerikan Psikiyatri Birliği (APA), “psikolojik ilk yardım” olarak adlandırılan akut bir ruh sağlığı müdahalesinin geliştirilmesini tanımlayan ve savunan “Toplum Afetlerinde Psikolojik İlk Yardım” başlıklı bir monografi yayınlamıştır (APA, 1954). PİY kavramı, 1980'lerde ve 1990'larda afet ruh sağlığı uzmanları arasında daha fazla ilgi görmüştür. 2011 yılında Dünya Sağlık Örgütü PİY kılavuzunu yayınlamıştır (WHO, 2011).

1.3.Psikolojik İlk Yardım: Kime, Nerede, Ne zaman?

Erken dönem psikososyal müdahale yöntemi olarak PİY, toplumsal ve bireysel ihtiyaçları gözetebilen bir uygulama olması nedeniyle diğer yaklaşımlardan ayrılmaktadır (Kılıç & Şimşek, 2018).

Acil durumların ani, yıkıcı doğası, insanların belirsizliğe ve strese maruz kalacağı anlamına gelir. İnsanlar farklı derecelerde sıkıntı yaşayacaklardır. Tehlikedeki herhangi bir kişi, mümkünse, psikolojik ilk yardıma erişebilmelidir (Hobfoll et al. 2007; SAMHSA 2010).

PİY, yakın bir zamanda ciddi bir kriz durumuna maruz kalmış stresli insanlar içindir. Bu müdahalelere duyulan ihtiyaç, afet sonrası erken dönemde tüm yaş grupları ve tüm kültürlerden bireyler için geçerlidir. PİY hem çocuklara hem yetişkinlere uygulanabilir. PİY, afetin türü ve zamanına ve ayrıca bireylerin ihtiyaçlarını karşılamak için ne kadar zamana ihtiyaç duyulduğuna bağlı olarak günler veya haftalarca sunulabilir (WHO, 2011; Shannon, 2015). PİY farklı ortamlarda verilebilir. Çoğunlukla etkilenen bölgede ve afet sahasında uygulanır. Bunun yanı sıra, ihtiyaca göre, okul, hastane, ev, iş yeri, toplum merkezleri gibi çeşitli alanlarda da uygulamalar gerçekleştirilebilir (Australian Psychological Society, 2013).

İnsanların psikolojik ilk yardımın sağlayabileceğinden daha fazla bakıma acil ihtiyaç duyduğu şiddete maruz kalma, intihar, saldırganlık, istismar ve ihmal gibi bazı karmaşık durumlar da olacaktır. Bu kişilerin derhal özel desteğe sevk edilmesi gerekir (Hobfoll et al. 2007; SAMHSA, 2010).

1.4.Felaket Durumlarında Stresin Etkileri

Bir afet sonrasında insanların ortak stres tepkileri vardır. PİY yoluyla insanların anlık stresini azaltarak, insanların uzun vadeli başa çıkma konusunda daha iyi bir yeteneğe sahip olması sağlanabilir. Afet sonrası görülen yaygın stres reaksiyonları bilinç bulanıklığı, konfüzyon, korku, endişe, kızgınlık, saldırganlık, umutsuzluk ve çaresizlik duyguları, uyku sorunları, fiziksel acı/ağrı, yas, şok, sarsılmış dini inanç, kendine veya başkalarına olan güven kaybını içerir (Minnesota Department of Health, 2022).

Felaketten kurtulanların yaşadığı fiziksel, zihinsel, davranışsal ve ruhsal tepkiler, iyileşme sürecini engellerken potansiyel olarak adaptif başa çıkmayı engeller. Afet sırasında ve sonrasında hayatta kalanların yaşayabileceği çok çeşitli olumlu ve olumsuz tepkiler vardır. Bu tepkiler aşağıdaki şekilde özetlenebilir (Tablo 1):

Tablo 1: Afet Sonrası Yaşanabilecek Olumlu ve Olumsuz Tepkiler (National Center for PTSD, 2018)

ETKİ ALANI	OLUMSUZ YANITLAR	OLUMLU YANITLAR
BİLİŞSEL	Karışıklık, oryantasyon bozukluğu, endişe, araya giren düşünceler ve görüntüler, kendini suçlama	Azim ve kararlılık, daha keskin algı, cesaret, iyimserlik, inanç
DUYGUSAL	Şok, üzüntü, keder, üzüntü, korku, öfke, uyuşukluk, sinirlilik, suçluluk ve utanç	İlgili, meydan okunmuş, harekete geçirilmiş hissetmek
SOSYAL	Aşırı geri çekilme, kişilerarası çatışma	Sosyal bağlılık, özgecil yardım davranışları
FİZYOLOJİK	Yorgunluk, baş ağrısı, kas gerginliği, karın ağrısı, artmış kalp hızı, abartılı irkilme tepkisi, uyku güçlüğü	Uyanıklık, yanıt vermeye hazır olma, artan enerji

2.PSİKOSOSYAL DESTEK

2.1.Psikososyal Desteğin Beş İlkesi

PİY modelleri genellikle 2004 yılında risk ve dayanıklılık araştırmaları ve saha deneyimlerinden elde edilen verilerle afet ruh sağlığı uzmanları tarafından tanımlanan, Hobfoll ve arkadaşları (2007) tarafından da 2007 yılında dile getirilen beş müdahale ilkesi ile desteklenmektedir (Hobfoll et al., 2007). Bu ilkeler psikolojik ilk yardım yaklaşımının temelini oluşturur. İnsanlar psikolojik ilk yardım sağlarken bu ilkeleri akılda tutmalıdır.

Psikososyal desteğin ilkeleri şunlardır:

- ✓ Güvenliğin sağlanması
- ✓ Sakinliği teşvik etmek
- ✓ Bağlantılı olma duygusunu geliştirme
- ✓ Öz yeterlik ve toplumsal yeterlik duygusunu geliştirme
- ✓ Umut aşılamak (Hobfoll et al. 2007; SAMHSA 2010; Shultz & Forbes, 2013).

Bu ilkeler Dünya Sağlık Örgütü tarafından; izlemek, dinlemek ve bağ kurmak olarak 3 basamakta açıklanmıştır (WHO, 2011).

- ✓ İzlemek, olayın gerçekteştiği ortam, ortamın güvenliği ve acil temel ihtiyaçları olan, stres tepkisi yüksek bireylerin gözlenmesini,
- ✓ Dinlemek, desteğe ihtiyacı olan kişilerin dinlenmesi ve sakinleştirilmesini,
- ✓ Bağ kurmak ise, insanların hizmetlere ve destek sağlayıcılara ulaşmalarını sağlamayı kapsamaktadır (WHO, 2011; Landoy et al., 2015).

Afetten hemen sonra psikolojik zarar riskini azaltmak için bazı adımlar atılabilir. Bunlar;

- ✓ Bir kişinin hikayesini kaç kez anlatması gerektiğini sınırlayarak yeniden travmatizasyonun önlenmesi,

- ✓ Gerekli olmayan tüm personelin afet bölgesine maruz kalmasını sınırlayarak yeni travmanın önlenmesi,
- ✓ Yaygın tepkileri, psikiyatrik problemler olarak etiketlemeyerek patolojik bir sıkıntının önlenmesi şeklindedir. Bu son adım atılmazsa, ruh sağlığı sorunları olan kişiler genellikle yardım aramaktan kaçınacaktır (Meeker et al., 2013).

2.2. Psikolojik İlk Yardımın Bileşenleri

PİY'da afet ve travma araştırmalarından, diğer programların sistematik olarak gözden geçirilmesinden, hayatta kalanların yorumlarından ve profesyonellerin geri bildirimlerinden türetilen sekiz temel eylem bulunmaktadır (Brymer et al., 2006).

1. İletişim ve Katılım: Bu eylem, hayatta kalanlarla şefkatli ve saygılı bir şekilde temas kurmayı gerektirir. Temas kurarken kültürel normların dikkate alınması gerekir.
2. Güvenlik ve Rahatlık: Buradaki amaç, anında ve sürekli güvenlik ve rahatlık sağlamaktır.
3. Stabilizasyon: Bu eylem, duygusal olarak aşırı yıpranmış bireylerle başa çıkmayı öğretir.
4. Bilgi Toplama: Buradaki amaç, bireylerin acil ihtiyaçlarını ve endişelerini keşfetmek için yeterli bilgiyi toplamaktır. En acil ihtiyacı belirlemek için minimum bilgi yeterlidir.
5. Pratik Yardım: Pratik Yardım, insanları ihtiyaçlarının karşılanması için harekete geçme konusunda güçlendirecek ve işlerin yeni bir normale dönebileceğine dair onlara umut verecektir. Tanıdık yiyecekler, konutlar, giysiler ve telefon erişimi sağlamak, dikkate alınması gerekenlerden bazılarıdır. PİY çalışanları tüm ihtiyaçları karşılamaya çalışmazlar, ancak hayatta kalanların proaktif olabilecekleri ve kendi hayatlarının kontrolünü yeniden sürdürebilecekleri bir ortam sağlarlar.
6. Sosyal Desteklerle Bağlantı: İnsanları sosyal desteklere yeniden bağlamak, afetten sonra esenlik ve iyileşme ile en olumlu şekilde bağlantılı eylemlerden biridir (Brymer et al.,

2006). Eylemler, aileleri yeniden bir araya getirmek, destek vermenin ve almanın yollarını öğretmek, izolasyondan kaçınmak, evcil hayvanlarla yeniden bir araya gelmek ve insanları birbirine ve ihtiyaç duyulan kaynaklara bağlamak için sosyal medyayı kullanmak gibi durumları içerebilir.

7. Başa Çıkma Hakkında Bilgilendirme: Bir felaketten sonra, bir dizi duygu yaşanabilir. İnsanlar zayıf olduklarını düşünebilir, manevi inançlarına meydan okuyabilir ve gelişim süreçlerinde aksaklıklar yaşayabilir. Hayatta kalanlar, suçluluk, öfke kontrolü, uyku sorunları, çocuğun davranışlarındaki değişiklikler ve alkol sorunları gibi sorunlarla başa çıkma konusunda bilgiye ihtiyaç duyabilirler.
8. İşbirliği Hizmetleriyle Bağlantılar: Bu eylemin amacı, insanları ihtiyaç duydukları hizmetlere anında ve gelecekte bağlamaktır. Hayatta kalanlar, sürekli olarak lisanslı bir profesyonel tarafından tıbbi bakım veya zihinsel sağlık müdahalesi için sevkler için ihtiyaç duyabilir. Daha sıklıkla, onlar için hangi topluluk kaynaklarının mevcut olduğunu ve bunlara nasıl erişebileceklerini bilmeleri gerekir. (Brymer et al., 2006; Shannon 2015).

PIY sağlayıcısı bu temel eylemleri değiştirebilir ve hayatta kalanların ihtiyaçlarına göre uyarlayabilir; bu nedenle, gerektiğinde bireylere daha fazla veya daha az zaman ve çaba harcanmasına izin verir. Nasıl yürürlüğe konulursa konulsun, bu temel eylemler, dayanıklılığı artırmayı ve sıkıntıyı azaltmayı amaçlar (National Child Traumatic Stress Network & National Center for PTSD, 2009).

WHO (2011) kılavuzuna göre, bu eylemler aşağıdaki gibi özetlenmiştir:

- ✓ Pratik bakım ve destek sağlama
- ✓ İhtiyaçları ve endişeleri değerlendirme
- ✓ İnsanların temel ihtiyaçlarını karşılamalarına yardımcı olma
- ✓ İnsanları konuşmaya zorlamadan dinleme

- ✓ İnsanları rahatlatma ve kendilerini sakin hissetmelerine yardımcı olma
- ✓ İnsanların bilgiye, hizmetlere ve sosyal desteklere bağlanmasına yardımcı olma
- ✓ İnsanları daha fazla zarardan koruma.

3.PSİKOLOJİK İLK YARDIM UYGULAMA

3.1. Psikolojik İlk Yardım Yaklaşımını Yönlendiren Eylemler

Psikolojik ilk yardım sağlarken, yardımcıların yapacağı işlemler, yardım edilen kişilerin durumlarına ve ihtiyaçlarına bağlı olacaktır. Psikolojik ilk yardım yaklaşımını yönlendiren üç temel eylem grubu vardır. “Bak, dinle, ilişkilendir ve yönlendir” (WHO, 2011). Bu eylem ilkeleri, acil bir durumun nasıl görüleceği ve güvenli bir şekilde girileceği ve etkilenen kişilerin ihtiyaçlarını anlamak (dinlemek) ve onları ihtiyaç duydukları bilgi ve pratik destekle ilişkilendirmek (bağlantı) için kimin yardıma ihtiyacı olduğunu (bakmak) belirleme konusunda rehberlik sağlar (Australian Red Cross, 2020; IFRCNS, 2018; WHO, 2011) (Tablo 2).

Tablo 2: Psikolojik ilk yardım yaklaşımını yönlendiren eylemler (Australian Red Cross, 2020).

BAKMAK	DİNLEMEK	BAĞLANTI
Yardımcıların güvenliğini ve desteğe en çok kimin ihtiyaç duyabileceğini ve psikolojik triyaj anlamına gelir.	Yardımcıların sıkıntı içindeki insanlara yaklaştıkları ve onlarla etkileşime başladıkları andan itibaren onlarla iletişim kurma biçimini ifade eder.	Bilgi veren ve insanların temel ihtiyaçlarını karşılamalarına ve durumlarıyla başa çıkmak için ihtiyaç duydukları kaynaklara erişmelerine yardımcı olan pratik sonuçlara sahiptir.

<ul style="list-style-type: none"> •Kimin yardıma ihtiyacı var? •Emniyet ve güvenlik riskleri •Fiziksel yaralanmalar •Acil, temel ve pratik ihtiyaçlar •Duygusal tepkiler. 	<ul style="list-style-type: none"> •Birine yaklaşma •Kendini tanıtmaya •Dikkati verme ve aktif dinleme •Başkalarının duygularını kabul etme •Zor durumdaki kişiyi sakinleştirme •İhtiyaçları ve endişeleri öğrenme •Tehlikedeki kişilerin acil ihtiyaç ve sorunlarına çözüm bulmalarına yardımcı olma. 	<ul style="list-style-type: none"> •Erişim bilgileri •Sevdikleri ve sosyal destekleriyle bağlantı kurma •Pratik sorunların üstesinden gelme •Hizmetlere ve diğer yardımlara erişim.
---	---	---

3.2.Psikolojik İlk Yardım Uygulayıcıları

Afet sonrası oluşan psikolojik travmalar sonucunda ihtiyaç duyduğu psikolojik destek sağlanmadığında, bireylerin hayatını olumsuz yönde etkilemekte ve bireylerin ruh sağlığını yaşam boyu devam edebilecek bir süreçte bozabilmektedir. Bu bağlamda ruh sağlığı alanında çalışan sağlık profesyonellerine önemli sorumluluklar düşmektedir (Doğan & Erdur, 2014).

PIY uygulayıcıları, davranışsal iyileşmeyi kolaylaştırma girişimlerinde hastalarına gerekli psikolojik müdahaleyi sağlayabilirler (Forbes et al., 2011). Ancak mağdurların sakinleşmelerini ve motivasyonlarını sağlamada yeterli olunmadığında (Travma Sonrası Stres Bozukluğu'nda travmanın ciddi etkilerini yönetme gibi) ruh sağlığı alanında çalışan meslek uzmanlarından yardım alınması gerekebilir (Shah et al. 2020b).

PIY müdahaleleri esnasında sağlık profesyonelleri pek çok travmatik hikayeye maruz kalabilir; yaralanmalara ve ölüme tanıklık edebilirler. Bu olaylardan doğrudan etkilenebilir; zor koşullarda başkalarına yardım sağlama konusunda stres yaşayabilirler (Snider et

al., 2012). Bir çalışmada hemşirelerin toplu yaralılarla baş etmede zorluk yaşadıkları gösterilmiştir (Al Khalaileh et al., 2012).

Bu nedenlerle uygulayıcıların sağlık ve refahlarına dikkat etmeleri, her kriz durumunda yardıma hazır olmaları ve motivasyonun sağlanmasında psikolojik ilk yardım eğitimi almaları yarar sağlayıcı olacaktır. Nitekim ulusal bir çalışmada, hastane ortamında yoğun stres altında çalışan hemşirelerin, psikolojik ilk yardım konusunda bilgili ve uygulayıcı olmalarının, hastaya yardıma etkin olmasının yanında, kendi baş etme becerileri ve öz bakımlarını sağlamada da önemli olduğu belirtilmektedir (Kılıç & Şimşek, 2018). Başka bir çalışmada ise sağlık çalışanlarının afete hazırlık konusundaki bilgilerinin yetersiz olduğu bildirilmiştir (McKibbin et al., 2011). Afet durumlarına müdahale konusunda sağlık çalışanlarının bilgi eksikliği, mevcut sistemdeki verimsizliklere işaret etmektedir.

Psikolojik ilk yardımda, yangın, patlama veya hastalık salgını gibi afetler durumunda gerekli psikolojik müdahaleyi sağlayabilecek bireylerin mevcudiyetini sağlamak çok önemlidir. Acil durum veya afetten etkilenenlerin psikolojik uyum ve dayanıklılığını artırmaya müdahale etmek, yeterli eğitime sahip çok sayıda profesyonelin bulunmasını gerektirmektedir. Eğitim programları aracılığıyla PİY becerilerinin kazandırılması insanları psikolojik olarak hazırlayacak ve böylece sıkıntı azaltacaktır (Shah et al., 2020b). PİY eğitimi, çalışanları bir kriz sonrasında acil psikolojik desteğe ihtiyaç duyan bireylere terapötik müdahale olarak PİY'ı sunacak bilgi ve becerilerle donatmayı amaçlayan bir eğitim müdahalesidir (Wang et al., 2021).

Noullet ve arkadaşları (2018), eğitime katılmanın, eğitimden yaklaşık 1 yıl sonra önemli ölçüde daha yüksek dayanıklılık puanları ve daha düşük tükenmişlik ve ikincil stres puanları bildirmeleriyle sonuçlandığını buldu. Said ve arkadaşları (2022) çalışmalarında PİY eğitimi alan hemşirelerin, afete hazırlıklı olma, öz yeterlilik ve PİY kullanımına ilişkin olumlu tutumlarının artırdığını bulmuşlardır. Bu sonuçlar PİY eğitiminin hem afete hazırlık hem de kişisel psikolojik sağlık üzerinde olumlu etkileri olabileceğini düşündürmektedir.

Kritik olayların ardından psikososyal destek oluşturulmasının önemini kabul ederek, PİY eğitimlerinin yaygınlaştırılması sağlanmalıdır.

SONUÇ

PİY, kişiye yargılayıcı olmayan bir şekilde yaklaşmayı, ihtiyaçlarını değerlendirmeyi, bilgi toplama ile desteklemeyi ve onları daha fazla kaynakla ilişkilendirmeyi içeren, ruh sağlığı desteği sağlamak için uygulanan bir yaklaşımdır. Terapötik bir müdahale olarak bu yaklaşımların sunulmasında görev alacak bireylerin afet durumlarında travmayı yönetmede temel uzmanlık açısından hazırlanmasını ve eğitilmesini sağlamak zorunludur. Bu nedenle, personel ihtiyacına göre daha fazla çalıştay ve yıllık eğitim kursları düzenlenmesi, sürekli eğitim kurslarının formüle edilmesi potansiyel acil durumlara hazırlıklı olma açısından uygun stratejilerdir.

Ayrıca daha iyi risk ve dayanıklılık araştırmalarına ihtiyaç vardır. Kimin kendi kendine iyileşemeyeceği (veya risk altında olduğu), neyin ve ne zaman taranacağı ve müdahale hedeflerinin geliştirilmesinde ileriye dönük ve boylamsal tasarımlara ihtiyaç vardır. Psikolojik dayanıklılığa yönelik çalışmaların yapılması da birincil önleme stratejilerinin geliştirilmesine yardımcı olacaktır.

KAYNAKÇA

- Al Khalaileh, M.A., Bond, E., & Alasad, J.A. (2012). Jordanian nurses' perceptions of their preparedness for disaster management. *International Emergency Nursing*, 20(1), 14-23. <https://doi.org/10.1016/j.ienj.2011.01.001>.
- American Psychiatric Association (1954). *Psychological first aid in community disasters*. Washington, DC: Author.
- Australian Psychological Association. (2013). *Psychological first aid an Australian Guide to supporting people affected by disaster*. Melbourne: Australian Psychological Society.
- Australian Red Cross. (2020). *Psychological First Aid: Supporting people affected by disaster in Australia*. <https://www.redcross.org.au/globalassets/cms-migration/documents/stories/psychological-first-aid-an-australian-guide.pdf>
- Blain, D., Hoch, P., & Ryan, V. G. (1945). A course in psychological first aid and prevention. *American Journal of Psychiatry*, 101(5), 629-634. <https://doi.org/10.1176/ajp.101.5.629>.
- Brymer, M., Jacobs, A., Layne, C., Pynoos, R., Ruzek, J., Steinburg, A., & et al. (2006). PFA Field Operations Guide (2nd ed.). California: National Child Traumatic Stress Network and National Center for PTSD, USA.
- Bullock, J. A., Haddow, G., & Coppola, D. P. (2016). *Managing Children in Disasters: Planning For Their Unique Needs*. CRC Press
- Coppola, D.P. (2011). *Introduction to International Disaster Management*. 2 ed. United Kingdom: Butterworth-Heinemann; p. 684.
- Dieltjens, T., Moonens, I., Van Praet, K., De Buck, E., & Vandekerckhove, P. (2014). A systematic literature search on psychological first aid: Lack of evidence to develop guidelines. *PLoS ONE*, 9(12), e114714. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114714>.

- Doğan, T., & Erdur, Ö. (2014). Afetler, Travmalar, Krizler ve Travmatik Stres Tepkileri. Türkan Doğan ve Özgür Erdur (Ed.), Afetler, Krizler, Travmalar ve Psikolojik Yardım içinde (s. 3-24). Türk PDR Derneği Yayınları, Ankara.
- Dong, L., & Bouey, J. (2020). Public mental health crisis during COVID-19 pandemic, China. *Emerging Infectious Diseases*, 26, 1616-1618.
- Everly Jr. G.S. & Lating J.M. (2021) Psychological first aid (PFA) and disasters. *International Review of Psychiatry*, 33(8), 718-727. <https://doi.org/10.1080/09540261.2021.2016661>.
- Forbes D, Lewis V, Varker T, Phelps A, O'Donnell M, Wade DJ, & et al. (2011). Psychological first aid following trauma: implementation and evaluation framework for high-risk organizations. *Psychiatry*, 74, 224-239. <https://doi.org/10.1521/psyc.2011.74.3.224>
- Hobfoll, SE, Watson, P, Bell, CC, Bryant, RA, Brymer, MJ, Friedman, M.J. & et al. (2007). Five essential elements of immediate and midterm mass trauma intervention: Empirical evidence. *Psychiatry*, 70, 283-315. https://www.un.org/sites/un2.un.org/files/un_policy_briefcovid_and_mental_health_final.pdf
- International Federation of Red Cross and Red Crescent National Societies (IFRCNS). (2018). *A Guide to Psychological First Aid For Red Cross Red Crescent Societies*.
- Kılıç, N., & Şimşek, N. (2018). Psikolojik ilk yardım ve hemşirelik. *Journal of Psychiatric Nursing*, 9(3), 212-218. <https://doi.org/10.14744/phd.2017.76376>.
- Landoy, B.V.N., Hechanova, M.R.M., Ramos, P.A.P., & Kintanar, N.S.M. (2015). The application and adaptation of psychological first aid: the filipino psychologists' experience after typhoon haiyan. *Philippine Journal of Psychology*, 48, 81-104.
- Maunder, R.G., Leszcz, M., Savage, D., Adam, M.A., Peladeau, N., Romano, D., & et al. (2008). Applying the lessons of SARS to pandemic influenza. *Canadian Journal Public Health*, 99, 486-488. <https://doi.org/10.1007/BF03403782>.

- McKibbin, A.E., Sekula, K., Colbert, A.M., & Peltier, J.W. (2011). Assessing the learning needs of South Carolina nurses by exploring their perceived knowledge of emergency preparedness: evaluation of a tool. *The Journal of Continuing Education in Nursing*, 42(12), 547-58. <https://doi.org/10.3928/00220124-20111003-04>.
- Meeker, E., Plum, K., & Veenema, T. (2013). *Management of the psychosocial effects of disasters*. In Veenema T. (Ed.), *Disaster Nursing and Emergency Preparedness* (3rd ed.). pp. 111-130. New York: Springer Publishing Company.
- Minnesota Department of Health. *Psychological First Aid (PFA)*. Accessed 03.07.2022. <https://www.health.state.mn.us/communities/ep/behavioral/pfa.html>.
- National Center for PTSD. *Handouts from the Psychological First Aid Manual*. (2018). https://www.ptsd.va.gov/professional/treat/type/PFA/VA_NCP_TSD_All_508.pdf
- National Child Traumatic Stress Network, & National Center for PTSD. (2009). *Psychological First Aid for Schools field operations guide* (2nd ed.). from <https://www.nctsn.org/resources/psychological-first-aid-schools-pfa-s-field-operations-guide>
- Noullet, C., Lating, J. M., Kirkhart, M. W., Dewey, R., & Everly, G. S. Jr. (2018). Effects of pastoral crisis intervention training on resilience and compassion fatigue in clergy. *Spirituality in Clinical Practice*, 5(1), 1-7.
- Said, N.B., Molassiotis, A. & Chiang, V.C.L. (2022). Psychological first aid training in disaster preparedness for nurses working with emergencies and traumas. *International Nursing Review*, 1-11. <https://doi.org/10.1111/inr.12749>.
- Seyedin, H., Abbasi Dolatabadi, Z., & Rajabifard, F. (2015). Emergency nurses' requirements for disaster preparedness. *Trauma Monthly*, 20(4), e29033. <https://doi.org/10.5812/traumamon.29033>.

- Shah, K., Kamrai, D., Mekala, H., Mann, B., Desai, K., & Patel, R.S. (2020a). Focus on mental health during the coronavirus (COVID-19) pandemic: applying learnings from the past outbreaks. *Cureus*, 12, e7405. <https://doi.org/10.7759/cureus.7405>.
- Shah, K., Bedi, S., Onyeaka, H., Singh, R., & Chaudhari, G. (2020b). The role of psychological first aid to support public mental health in the COVID-19 pandemic. *Cureus*, 12(6), e8821. <https://doi.org/10.7759/cureus.8821>.
- Shannon, M.E.R. (2015). Early psychosocial intervention after disaster: Psychological first aid. *Health Emergency and Disaster Nursing*, 2, 3-6.
- Shultz, J.M., & Forbes, D. (2013). Psychological first aid: rapid proliferation and the search for evidence. *Disaster Health*, 2, 3-12.
- Snider, L., Chehil, S., & Walker, D. (2012). Psychological first aid. In: *Mental Health and Psychosocial Support in Disaster Situations in the Caribbean: Core Knowledge for Emergency Preparedness and Response*. Washington: PAHO; 2012. p. 97–107.
- Substance Abuse and Mental Health Services Administration (SAMHSA). (2010). *Psychological First Aid for First Responders – Tips for Emergency and Disaster Response Workers*. <http://store.samhsa.gov>.
- Thorne, F. C. (1952). Psychological first aid. *Journal of Clinical Psychology*, 8, 210-211.
- United Nations. (2020). *Policy brief: COVID-19 and the need for action on mental health*. p.3-4.
- Wang, L., Norman, I., Xiao, T., Li, Y., & Leamy, M. (2021). Psychological first aid training: a scoping review of its application, outcomes and implementation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(9),4594. <https://doi.org/10.3390/ijerph18094594>.
- World Health Organization, War Trauma Foundation and World Vision International. (2013). *Psychological first aid: Facilitator's manual for orienting field workers*. Geneva: WHO.

World Health Organization, World Vision International, and War Trauma Foundation. (2011). *Psychological first aid: guide for field workers*. Geneva: WHO.

BÖLÜM 8

ÜNİVERSİTE ÖĞRENCİLERİNİN SAĞLIKLI YAŞAM BİÇİMİ DAVRANIŞLARININ İNCELENMESİ

Öğr. Gör. Burcu NAL¹

Doç. Dr. Mustafa NAL²

¹ Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik Bölümü, Kütahya, Türkiye. E-posta: burcu.nal@ksbu.edu.tr, ORCID ID 0000-0002-9469-8651.

² Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Sağlık Yönetimi Bölümü, Kütahya, Türkiye. E-posta: mustafa.nal@ksbu.edu.tr, ORCID ID 0000-0002-3282-1124.

GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü'nün tanımına göre sağlık; sadece hastalık veya sakatlık halinin olmayışı değil, bedensel, ruhsal ve sosyal yönden tam bir iyilik halidir (Yalçınkaya vd., 2007; Özkan ve Yılmaz, 2008).

Doğrudan birey, aile, toplum ve toplum gruplarının sağlık potansiyelinin geliştirilmesi ve iyilik düzeyinin artmasına yönelik etkinlikler sağlığı geliştirme olarak ifade etmektedir. Başka bir deyişle var olan davranışlarını en üst düzeye çıkarmasıdır (Özkan ve Yılmaz, 2008).

Sağlığı geliştirme girişimleri ile hastalıkların azalması, yaşamın uzaması, yaşam kalitesinin artması sağlanır ve sonuçta “sağlıklı bir toplum” oluşmasına katkıda bulunulur (Şimşek vd., 2012).

Sağlıklı yaşam biçimi, bireyin sağlığını etkileyebilen tüm davranışlarını kontrol etmesi ve günlük aktivitelerini düzenlemede kendi sağlık statüsüne uygun davranışları seçerek düzenlemesi olarak tanımlanmıştır (İlhan vd., 2010; Küçükberber vd., 2011; Gömleksiz vd., 2020).

Sağlığı geliştiren davranışlar, bireyin iyilik düzeyini arttıran, kendini geliştirmeyi sağlayan davranışları içerir. Sağlıklı yaşam biçimi davranışları, yeterli ve düzenli egzersiz yapma, dengeli beslenme, sigara kullanmama, sağlık sorumluluğu, stres yönetimi ve hijyenik önlemleri kapsar (İlhan vd., 2010).

Risklerin azaltılması ve sağlığın geliştirilmesi, yalnızca ölümlerin ve sakatlıkların önlenmesini sağlamayacak, aynı zamanda hükümetlerin ve toplumun katılımının sağlandığı bir ortam yaratarak sosyal değerlerinin güçlenmesini de sağlayacaktır (Gömleksiz vd., 2020).

Üniversite yaşamı, bireylerin kişiliğinde, mesleki eğitim, gelişim ve yaşamında, sağlık davranışları geliştirmesinde önemli değişikliklerin yaşandığı bir dönemdir. Yaşam stilineki değişiklikler ve alışılmadık yaşam koşulları birçok öğrenci için yetersiz beslenme, yeterli olmayan egzersiz gibi sağlıksız davranışlara neden olmaktadır (İlhan vd., 2010; Gömleksiz vd., 2020).

Üniversite ortamı bireylerin fiziksel, psikolojik, sosyal olarak yeni gelişimler yaşadığı ve bireyin yeni sorumluluklarla karşı karşıya

kaldığı bir ortamdır. Bu nedenle üniversite öğrencileri yaşam biçimleri üzerinde daha fazla otonomi kurmaktadır. Bu geçiş dönemi sağlıklı yaşam biçimi davranışlarının pekiştirildiği dönemdir (Nazik ve Güneş, 2019).

Pender ve arkadaşları'nın (1987) oluşturduğu sağlığı geliştirme modeli kapsamındaki temel kavram ve ilkeler rehber olarak alınmıştır. Sağlığı geliştirme modelinde bireylerin davranışlarını etkileyen öğrenme süreçleri önemlidir ve bu süreçte bireylere olumlu sağlık davranışları edinmelerini sağlayan eğitimin önemli olduğunu vurgular (Li & Powdthavee, 2014; Karaca ve Aslan, 2019).

Literatür verileri doğrultusunda geleceğin teminatı olan üniversite gençlerinin topluma rol model olmaları sağlıklı yaşam biçimi davranışları sergilemelerinin önemli olduğu düşünülmektedir. Bu doğrultuda üniversite öğrencilerinin sağlıklı yaşam biçimi davranışları ve etkileyen faktörlerin araştırılmasının toplum sağlığını korumaya katkı verebileceği düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı üniversite öğrencilerinin sağlıklı yaşam biçimi davranışı düzeyleri (1), sağlıklı yaşam biçim davranışlarını etkileyen faktörleri (2), ve sağlıklı yaşam biçim davranışının öğrencilerin başarısı üzerine etkisini incelemektir.

1. ARAŞTIRMANIN METODU

1.1. Araştırmanın Yöntemi

Bu çalışmada nicel araştırma türünde olup betimleyici ve kesitsel bir çalışmadır. Araştırma verilerinin toplanmasında yüz yüze anket yöntemi kullanılmıştır. Araştırmanın evrenini bir Isparta'nın Yalvaç ilçesinde bulunan üniversite yerleşkesinde eğitim gören toplam 450 öğrenciden oluşmaktadır. Araştırmanın örnekleme evreni bilinen örneklem hesaplama yöntemi hesaplanmıştır. Evren büyüklüğü 450 olan, % 95 güven aralığında ve % 5 hata payı ile örneklem sayısı 208 olarak belirlenmiştir. Aktif olarak eğitimlerine devam eden tüm öğrencilere ulaşılmış, onamları alınan, araştırmaya katılmaya kabul eden, 18 yaş üstü, 211 öğrenci araştırmaya dahil edilmiştir. Araştırma verileri 1-31 Mayıs 2018 tarihleri arasında toplanmıştır.

1.2. Veri Toplama Araçları

Araştırmada kullanılan anket iki bölümden oluşmaktadır. Birinci bölümde öğrencilerin sosyodemografik özellikleri ve okul başarı durumlarına ait ifadeler yer almaktadır.

İkinci bölümde ise Sağlıklı Yaşam Biçimi Davranışları Ölçeği II' ye ait ifadeler yer almaktadır. Sağlıklı Yaşam Biçimi Davranışları Ölçeği II, Walker ve ark. tarafından 1996 yılında geliştirilmiş, 2008 yılında da Bahar ve ark., tarafından Türkçeye çevrilip, geçerlik-güvenirliği çalışılmıştır. Bu ölçek 52 madde bulunmaktadır ve manevi gelişim, kişilerarası ilişkiler, beslenme, fiziksel aktivite, sağlık sorumluluğu, stres yönetimi olmak üzere altı boyuttan oluşmaktadır.

Sağlık sorumluluğu (3, 9, 15, 21, 27, 33, 39, 45, 51), fiziksel aktivite (4, 10, 16, 22, 28, 34, 40, 46), beslenme (2, 8, 14, 20, 26, 32, 38, 44, 50), manevi gelişim (6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 52), kişilerarası ilişkiler (1, 7, 13, 19, 25, 31, 37, 43, 49) ve stres yönetimidir (5, 11, 17, 23, 29, 35, 41, 47).

Elde edilen puanın yüksek olması sağlıklı yaşam biçimi davranışının olumlu olduğunu göstermektedir (Bahar, vd., 2006).

Sağlıklı yaşam biçimi davranışları ölçeğinin tüm maddeleri olumludur. Ters madde yoktur. İşaretleme 4'lü likert tipli ölçek üzerine yapılır. "Hiçbir zaman" yanıtı için 1, "Bazen" yanıtı için 2, "Sıkı sık" yanıtı için 3, "Düzenli olarak" yanıtı için 4 puan verilir. Ölçeğin tamamı için en düşük puan 52 ve en yüksek puan 208'dir (Bahar, vd., 2006). Bu kapsamda ölçeğin nötr değeri 130 olarak belirlenmiştir.

Ölçeği geliştiren Walker (1996), ölçeğin Cronbach Alpha ise 0,94 ve ölçeğin açıkladığı varyans oranını ise %79-87 arasında değiştiğini tespit etmiştir. Ölçeği Türkçeye uyarlayan Bahar ve diğerleri (2008) ise Cronbach Alpha değeri 0.92 olarak tespit etmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada ise Cronbach Alpha değeri 0,91 olarak tespit edilmiştir. Cronbach Alfa güvenilirlik katsayısı $0.80 < \alpha < 1.00$ arasındaki değerler yüksek düzeyde güvenilir olarak kabul edilmektedir (Yıldız ve Uzunsakal, 2018).

1.3. Araştırmanın İstatistiği

İstatistiksel değerlendirme IBM SPSS 25.0 paket programı üzerinden yapıldı. Katılımcıların normal dağılım özelliği gösteren iki grubun karşılaştırılmasında T Testi, normal dağılım özelliği göstermeyen üç ve daha fazla grubun karşılaştırılmasında ise Kruskal-Wallis Testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

2. BULGULAR

Araştırmaya katılan öğrencilerin demografik özelliklerine ait bulgular Tablo 1’de gösterilmiştir. Araştırmaya katılanların %63’ü (133) kadın, %37’si (78) erkek olmak üzere toplam 211 kişi katılmıştır. Katılımcıların %57,8’i (122) 18-20 yaş grubunda, %42,2’si (89) 21 ve üstü yaş grubunda yer almaktadır ve yaş ortalaması $20,48 \pm 2,65$ olarak tespit edilmiştir. Öğrencilerin %53,1’i (112) 1.sınıf, %36’sı (76) 2.sınıf, %7,1’i (15) 3.sınıf, %3,8’i (8) 4.sınıf öğrencisidir. Katılımcıların birlikte yaşama durumu incelendiğinde ise %73,5’i (155) arkadaşı ile, %13,7’si (29) ailesi ile, %12,8’i (27) yalnız yaşadığı belirlenmiştir. Öğrencilerin %52,6’sı (111) devlet yurdunda, %21,8’i (46) özel yurtda, %15,2’si (32) evde, %9’u (19) apart otelde ve %1,4’ü (3) pansiyonda bulunduğu tespit edilmiştir. Araştırmaya katılan öğrencilerin ağırlıklı genel not ortalamaları (AGNO) incelendiğinde ise %25,6’sı (54) 1,99 ve altı, %30,3’ü (64) 2-2,49, %23,7’si (50) 2,50-2,99, %16,6’sı (35) 3,00-3,49, %3,8’i (8) 3,50-4,00 not ortalamasına sahip olduğu tespit edilmiştir. Katılımcıların %39,8’i (84) 499 TL ve altında, %45’i (95) 500 ile 999 TL aralığında, %6,6’sı (14) ise 1500 TL ve üstünde aylık gelire sahip olduğu belirlenmiştir.

Tablo 1. Demografik özelliklere ait bulgular

		N	%
Cinsiyet	Kadın	133	63,0
	Erkek	78	37,0
Yaş Grupları	18-20	122	57,8
	21 ve üstü	89	42,2
Sınıf	1. sınıf	112	53,1
	2.sınıf	76	36,0
	3.sınıf	15	7,1
	4.sınıf	8	3,8

Birlikte yaşama durumu	Yalnız	27	12,8
	Arkadaşı ile	155	73,5
	Ailesi ile	29	13,7
Barınma durumu	Devlet yurdu	111	52,6
	Özel yurt	46	21,8
	Pansiyon	3	1,4
	Apart otel	19	9,0
	Ev	32	15,2
AGNO	1,99 ve altı	54	25,6
	2,00-2,49	64	30,3
	2,50-2,99	50	23,7
	3,00-3,49	35	16,6
	3,50-4,00	8	3,8
Aylık Gelir	499 TL ve altında	84	39,8
	500-999 TL	95	45,0
	1000-1499 TL	18	8,5
	1500 TL ve üstünde	14	6,6

Katılımcıların beden kitle indekslerine (BKİ) ait bulgular Tablo 2’de gösterilmiştir. Katılımcıların %69,6’sı (147) normal, %16,6’sı (35) fazla kilolu, %13,3’ü (28) zayıf, %0,5’i (1) I. derece obez olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 2. Beden kitle indeksine ait bulgular

BKİ grupları	kg/m ²	N	%
Zayıf	18.5 kg/m ² altında	28	13,3
Normal kilolu	18,5-24,9	147	69,6
Fazla kilolu	25-29,9	35	16,6
I. Derece obez	30,-34,9	1	0,5
II. Derece obez	35-39,9	0	0
III. Derece morbid obez	40 kg/m ² ve üzeri	0	0

SYBD II ölçeğine ait bulgular Tablo 3’te gösterilmiştir. SYBD II ölçeği puan ortalaması 131,61±20,82 olarak tespit edilmiştir. Ölçeğin alt boyutları arasında en yüksek puan ortalaması manevî gelişim (26,60±4,97) iken beslenme (19,94±4,33) en düşük puan ortalamasına sahip olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3. SYBD-II Ölçeğine ait bulgular

	Ortalama	Standart Sapma
Sağlık Sorumluluğu	20,68	4,41
Fiziksel Aktivite	18,14	5,05
Beslenme	19,94	4,33
Manevi Gelişim	26,60	4,97
Kişilerarası İlişkiler	26,14	4,71
Stres Yönetimi	20,09	4,01
SYBDÖ II	131,61	20,82

Cinsiyet ve yaş gruplarına göre SYBD ölçeği puan ortalamaları arasındaki farkı incelemek için yapılan T testi bulguları Tablo 4'te verilmiştir. Yapılan analiz sonucunda katılımcıların cinsiyetlerine göre SYBD puan ortalamaları arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Katılımcıların yaş gruplarına göre SYBD puan ortalamaları arasındaki farkın ise istatistiksel açıdan anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Bu sonuca göre 21 ve üstü yaş grubunun SYBD puan ortalamasının ($135,34\pm 21,66$), 18-20 yaş grubunun SYBD puan ortalamasından ($128,89\pm 19,84$) yüksek olduğu ve bu farkın anlamlı olduğu saptanmıştır.

Tablo 4. Cinsiyet ve yaş gruplarına göre SYBD puan ortalamaları T testi bulgular

		n	Ortalama	Standart sapma	t	p
Cinsiyet	Kadın	133	129,77	1,74	1,685	0,09
	Erkek	78	134,75	2,46		
Yaş Grubu	18-20	122	128,89	19,84	2,244	0,02
	21 ve üstü	89	135,34	21,66		

Katılımcıların demografik özelliklere göre SYBD puan ortalamaları Kruskal-Wallis Testi bulguları Tablo 5'te gösterilmiştir. Katılımcı öğrencilerin; sınıf, birlikte yaşama durumu ve barınma durumlarına göre SYBD puan ortalamaları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Katılımcıların AGNO'larına göre SYBD puan ortalamaları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Yapılan Post Hoc Tamhane's T2 testi sonucunda, AGNO'su 1,99 ve altında olanların

SYBD puan ortalamalarının ($122,83 \pm 20,40$), AGNO'su 2,00-2,49 ($135,87 \pm 18,87$) ve 2,50-2,99 olanların SYBD puan ortalamalarına ($134,26 \pm 18,87$) göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Katılımcıların aylık gelir durumuna göre SYBD puan ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Yapılan Post Hoc Tamhane's T2 testi sonucunda, aylık geliri 499 TL ve altında olanların SYBD puan ortalamalarının ($127,03 \pm 22,57$), aylık geliri 1500 TL ve üstü olanlara ($147,00 \pm 21,84$) göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 5. Demografik özelliklere göre SYBD puan ortalamaları Kruskal-Wallis Testi bulguları

		n	Ortalama	SS	Chi-square	p	Fark
Sınıf	1. sınıf	112	131,07	21,71	1,243	0,743	
	2.sınıf	76	131,63	19,18			
	3.sınıf	15	133,53	26,89			
	4.sınıf	8	135,50	10,84			
Birlikte yaşama durumu	Yalnız	27	137,48	21,21	2,336	0,311	
	Arkadaşı ile	155	130,23	19,93			
	Ailesi ile	29	133,55	24,53			
Barınma durumu	Devlet yurdu	111	129,65	21,28	1,534	0,821	
	Özel yurt	46	132,95	21,05			
	Pansiyon	3	127,00	7,00			
	Apart otel	19	134,42	22,89			
	Ev	32	135,25	18,52			
AGNO	a) 1,99 ve altı	54	122,83	20,40	11,419	0,022	a-b a-c
	b) 2,00-2,49	64	135,87	18,87			
	c) 2,50-2,99	50	134,26	18,87			
	d) 3,00-3,49	35	131,88	23,90			
	e) 3,50-4,00	8	139,12	22,49			
Aylık Gelir	a) 499 TL ve altında	84	127,03	22,57	12,751	0,005	a-d
	b) 500-999 TL	95	132,16	18,37			
	c) 1000-1499 TL	18	138,11	17,14			
	d) 1500 TL ve üstünde	14	147,00	21,84			

3. TARTIŞMA

Araştırmaya katılan öğrencilerin %30,4'nün BKİ' nin normal sınırların dışında olduğu belirlenmiştir. Tıp fakültesi öğrencileri üzerinde yapılan bir araştırmada %25,3'nün BKİ' nin normal sınırların dışında olduğu (Açıkgöz, Akgün, Korkut vd., 2018), kadın öğrenciler üzerinde yapılan bir araştırmada öğrencilerin %23,3'nün BKİ' nin normal sınırların dışında olduğu belirlenmiştir (Bakır ve Balcı Yangın, 2019). Bizim elde ettiğimiz sonuçlar diğer çalışma sonuçlarının oldukça üzerinde olduğu görülmektedir.

Bu araştırmada öğrencilerin SYBD II ölçeği puan ortalaması (131,61±20,82) nötr değere (130) çok yakın olduğu belirlenmiştir. Türkiye'de üniversite öğrencileri üzerinde yapılan araştırmalarda öğrencilerin SYBD II ölçeği puan ortalamaları 118,00 ile 131,27 arasında değişmektedir (Bakır ve Balcı Yangın, 2019; Çalışkan vd., 2018; Gömleksiz vd., 2020; Şen vd., 2017). Genel olarak araştırma sonuçlarına bakıldığında Türkiye'de öğrencilerin sağlıklı yaşam biçim davranışlarının çok iyi düzeyde olmadığı söylenebilir.

Gömleksiz ve diğerleri (2020), Nacar ve diğerleri (2014) tarafından yapılan araştırmada 20 yaş altındaki öğrencilerin daha yüksek düzeyde sağlıklı yaşam biçimi davranışı gösterdiği belirlenmiştir. Literatürde farklı sonuçlar olduğu görülmektedir. Ancak bu araştırmada 20 yaş ve altında olanların daha düşük düzeyde sağlıklı yaşam biçimi davranışı gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durumun nedeni üniversite öğrencilerinin çoğunun ailelerinden ayrı bir ortamda yaşıyor olması ve 20 yaş altındaki öğrencilerin bu uyumu sağlama konusunda problem yaşamaları olabilir.

Bu araştırmada gelir durumu en düşük olan öğrenci grubunun gelir durumu en yüksek olan öğrenci grubuna göre sağlıklı yaşam biçim davranışlarının düşük olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç öğrencilerin yüksek düzeyde sağlıklı yaşam biçim davranışı göstermeleri için belirli bir düzeyde gelire ihtiyacı olduğunu göstermektedir. Türkiye'de yapılan diğer araştırmalarda da benzer sonuçlar elde edildiği görülmektedir (Açıkgöz vd., 2018; Gömleksiz vd., 2020).

Bu araştırmanın en ilginç sonuçlarından biri de öğrencilerin sağlıklı yaşam biçim davranışları ile öğrencilerin başarı durumları

arasında bir ilişki olmasıdır. AGNO'su 1,99 ve altında olanlar yani başarı düzeyi en düşük olanların SYBD puan ortalamasının da en düşük ve başarı durumu kendisinden yüksek olan iki gruptan (AGNO = 2,00-2,49 ve 2,50-2,99) anlamlı bir şekilde düşük olduğu belirlenmiştir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Öğrencilerin yaklaşık üçte birinin BKİ' nin normal sınırların dışında olduğu belirlenmiştir. Ayrıca sağlık yaşam biçim davranışı ile öğrencilerin başarı durumları arasında ilişki olduğu belirlenmiştir. Öğrencilerin sağlıklı yaşam biçim davranışları için okullarda fiziksel aktivite destekleyecek etkinlikler yapılabilir. Tüm öğrencilerin BKİ açısından taramadan geçirilmesi, ayrıca yeterli ve dengeli beslenmesi konusunda öğrencilere diyetisyen tarafından danışmanlık hizmeti verilmesi uygun olabilir. Bunlara ek olarak üniversitelerde sağlık hizmeti veren mediko-sosyal birimlerinin koruyucu ve sağlığı geliştirici sağlık hizmeti verebilecek düzeye getirilmesi uygun olacaktır. Bu şekilde öğrenciler sağlık taramasından geçirilebilir, sağlığı koruyucu ve geliştirici eğitimler verilebilir, bu sayede öğrencilerin sağlık sorumluluğu artırılabilir. Öğrencilerin kişiler arası ilişkilerini geliştirebilmesi için üniversitelerde öğrencilerin sosyal aktivitelere katılmaları konusunda teşviklerle öğrenciler desteklenebilir. Öğrencilere stres yönetimi konusunda uygulamalı eğitimler düzenlenebilir.

Gelir durumu düşük olan öğrencilerin sağlıklı yaşam biçim davranış düzeyleri de düşük olduğundan bu grupta öğrencilerin ekonomik açıdan desteklenmesi gerekmektedir. Bu konuda öğrencilerin burs alabileceği kuruluşlar hakkında bilgilendirilmesi uygun olacaktır. Ayrıca bu konuda üniversitelerde burs danışma birimleri oluşturulabilir.

KAYNAKÇA

- Açıkgöz, A., Akgün, M. F., Korkut, B., Cecen, E., Kocaoğlu, N. M., & Dayı, A. (2018). Tıp fakültesi öğrencilerinin sağlıklı yaşam biçimi davranışları ve ilişkili etmenler: Gözlemsel araştırma. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 32(2), 99-110.
- Bahar, Z., Başar, A., Gördes, N., Ersin, F., Kıssal, A. (2008). Sağlıklı Yaşam Biçimi Davranışları Ölçeği II'nin geçerlilik ve güvenilirlik çalışması *C. U. Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi*, 12(1), 1-13.
- Bakır, N., Balcı Yangın, H. (2019). Üniversite öğrencilerinde premenstrual sendrom ve sağlıklı yaşam biçimi davranışları arasındaki ilişki. *Yaşam Becerileri Psikoloji Dergisi*, 3(5), 39-51.
- Çalışkan, C., Arberk, K., & Üner, S. (2018). Acil yardım ve afet yönetimi öğrencilerinin sağlıklı yaşam biçimi davranışları. *Turkish Journal of Public Health*, 16(3), 204-213.
- Gömlüksiz, M., Yakar, B., & Pirinçci, E. (2020). Tıp fakültesi öğrencilerinin sağlıklı yaşam biçimi davranışları ve ilişkili faktörler. *Dicle Tıp Dergisi*, 47(2), 347-358.
- İlhan, N., Batmaz, M., Akhan Utaş, L. (2010). Üniversite öğrencilerinin sağlıklı yaşam biçimi Davranışları. *Maltepe Üniversitesi Hemşirelik Bilim ve Sanatı Dergisi*, (3), 35-44.
- Karaca, T., & Aslan, S. (2019). Hemşirelik öğrencilerinin sağlık durumu algılarının ve sağlıklı yaşam biçimi davranışlarının belirlenmesi. *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, (4), 734-739.
- Küçükberber, N., Özdilli, K., Yorulmaz, H. (2011). Kalp Hastalarında Sağlıklı Yaşam Biçimi Davranışları ve Yaşam Kalitesine Etki Eden Faktörlerin Değerlendirilmesi. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi*, 11, 619-626.
- Li, J., Phowdthavee, N. (2014). Does more education lead to better health habits? Evidence from the school reforms in Australia. *Soc Sci Med*, 127, 83–91.

- Nacar, M., Baykan, Z., Cetinkaya, F., et al. (2014). Health promoting lifestyle behaviour in medical students: A multicentre study from Turkey. *APJCP*, 15, 8969-8974.
- Nazik, F., & Güneş, G. (2019). Üniversite öğrencilerinde problemlı internet kullanımı ve sağlıklı yaşam biçimi davranışları. *Cukurova Medical Journal*, 44, 41-48.
- Özkan, S., Yılmaz, E. (2008). Hastanede çalışan hemşirelerin sağlıklı yaşam biçimi davranışları. *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi*, 7(3), 91-105.
- Şen, M. A., Ceylan, A., Kurt, M. E., Palancı, Y., & Adın, C. (2017). Sağlık hizmetleri meslek yüksekokulu öğrencilerinin sağlıklı yaşam biçimi davranışları ve etkileyen faktörler. *Dicle Tıp Dergisi*, 44(1), 1-12.
- Şimşek H, Dilek Ö, İkizoğlu E, Safalı F, Yavuz Ö, Onur Ö, Tekel Ş, Çiftçi Ş. (2012). Tıp fakültesi öğrencilerinde sağlıklı yaşam biçimi davranışları ve ilişkili etmenler. *DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(3),151-157.
- Yıldız, D. ve Uzunsakal, E. (2018). Alan araştırmalarında güvenilirlik testlerinin karşılaştırılması ve tarımsal veriler üzerine bir uygulama. *Uygulamalı Sosyal Bilimler Dergisi*, 2(1), 14-28.
- Walker, S. N., & Hill-Polerecky, D. M. (1996). Psychometric evaluation of the health-promoting lifestyle profile II. *Unpublished manuscript, University of Nebraska Medical Center*, 120-126.
- Yalçınkaya, M., Gök Özer, F., Yavuz Karamanoğlu, A. (2007). Sağlık çalışanlarında sağlıklı yaşam biçimi davranışlarının değerlendirilmesi. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, 6(6), 409-420.

BÖLÜM 9

OMURGASIZ ANTİMİKROBİYAL PEPTİDLERİ:

POTANSİYEL TERAPÖTİK UYGULAMALAR

Dr. Ayşe Nur PEKTAŞ¹

¹ Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Moleküler Biyoloji ve Genetik, Sivas, Türkiye. e-posta: aysenurpektas@cumhuriyet.edu.tr, ORCID ID: 0000-0001-5621-2844

GİRİŞ

Konak savunma peptidleri veya antimikrobiyal peptidler (AMP'ler), doğuştan gelen bağışıklık sisteminin en önemli anahtar bileşenlerinden biridir (Zasloff, 2002; Hancock ve ark., 2012). Enfeksiyöz ajanlara karşı ilk savunma hattıdır. Genellikle 12 ila 50 amino asit rezidüsü içerirler (Lai Y ve Gallo R, 2009). Hücre zarındaki negatif yük ile etkileşerek bakteri hücrelerini öldürebilirler (Zasloff, 2002).

AMP'ler, bakteriler, mantarlar, bitkiler, böcekler ve memeliler dâhil olmak üzere tüm yaşam formlarında mevcuttur (Hancock R ve Sahl H, 2006; Diamond G ve ark., 2009; Fjell C ve ark., 2012; Di Francesco ve ark., 2013; Steckbeck J ve ark., 2014) ve mantarlara, bakterilere, protozoalara ve bazı virüslere karşı geniş bir etki yelpazesine sahiptir (Reddy ve ark., 2004; Marr ve ark., 2006; Lai Y ve Gallo R, 2009; Guani-Guerra ve ark., 2010; Wilson S ve ark., 2013; Wilmes ve Sahl, 2014).

Ayrıca, sentetik ve doğal olarak oluşan 2800'den fazla AMP kaydedilmiştir (Wang, 2015; Wang ve ark., 2016). Doğadaki bu çok sayıda AMP'ye rağmen (2800'den fazla benzersiz peptid) şu ana kadar bakterilerden 296, arkelelerden 4, protistlerden 8, mantarlardan 13, bitkilerden 343 ve hayvanlardan 2137 AMP izole edilmiştir.

AMP'ler genellikle doğada katyoniktir ve pozitif yüklü amino asit (arginin ve lizin) içeriklerine göre yükleri +2 ila +9 arasında olabilir. Ayrıca, ortalama %40 ila %50 arasında hidrofobik rezidü içerirler (Yeaman ve Yount, 2003; Hancock ve Sahl, 2006; Pasupuleti ve ark., 2012). Bilinen birkaç AMP negatif yüklüdür.

1. ANTİMİKROBİYAL PEPTİDLERİN YAPISI

AMP'ler çok sayıda birincil/ikincil yapı sergilerken, bunların çoğu faaliyetleriyle ilgili çok sayıda ortak özelliği paylaşır. Bu tür fizikokimyasal ve yapısal parametreler yük, hidrofobiklik ve amfipatikliktir.

1.1.Yük

Birçok araştırmacı katyonikliği antimikrobiyal aktivite için vazgeçilmez bir özellik olarak görüyor. Bakteri zarının negatif yüklü yüzeyi, bazı amino asitlerin mevcut pozitif yükü ile bu negatif yük arasındaki elektrostatik etkileşimle, AMP aktivitesinin ilk sürecinin anlaşılmasını sağlar Bu yorumdan hareketle, lizin ve arginin gibi pozitif yüklü kalıntıların varlığı, AMP'lerin birincil yapılarının temel bir özelliği olarak sunulur. Ayrıca pozitif yüklü amino asitlerin dizideki sıralaması/oluşturduğu patern de antimikrobiyal aktivitede önemli rol oynar.

1.2. Amfipatiklik

Muhtemelen amfipati, bolamfipati (Ali, 2007), yüz amfipatisi (Vandenburg ve ark., 2002) ve radyal amfipati (Xiong ve ark., 2015) şeklinde olup AMP'ler için dikkate değer bir özelliktir. Amfipatiklik, peptidin tüm hidrofobik kısımları bir tarafta ve tüm hidrofilik rezidüleri de karşı tarafta yapılanması yeteneğidir. Membranın amfipatik doğası nedeniyle, peptid amfipatikliği, AMP'lerin aktivitesi için önemli bir parametre haline gelir (Fernandez-Vidal ve ark., 2007). Peptidler insersiyon ile zar çift tabakası içinde etkileşime girdiğinde, peptidin hidrofobik kalıntıları polar membran lipid kuyukları ile etkileşime girer. Bu durum, bir kümelenme eylemi yaratırken, hidrofilik kalıntılar, zarların sulu ortamının polar baş grupları ile etkileşime girer.

1.3. Hidrofobiklik

Hidrofobiklik, bir peptidin hidrofobik rezidülerinin yüzdesidir ve bu yaklaşık dizinin %50si kadardır (Tossi A ve ark., 2000). Kesinlikle, bilayer katman ile peptid iletişiminin seviyesini gösteren temel bir özellik olarak çalışır. Peptid hidrofobikliğinin modülasyonu üzerine yapılan araştırmalar, peptid hidrofobikliği arttığında bunun antimikrobiyal aktiviteyi artırabildiğini, dolayısıyla her tür hücre zarına bağlanma afinitesinin arttığını ve membran türleri arasındaki seçiciliği en aza indirdiğini göstermektedir. Sonuç olarak, AMP'ler normal olarak makul sayıda hidrofobik rezidüye sahiptir ve mikrobiyal hücre zarlarına daha yüksek çekicilik gösterir (Wieprecht T. ve ark., 1997b; Chen Y. ve ark., 2007).

2. AMİNO ASİTLER AÇISINDAN ZENGİN ANTİMİKROBİYAL PEPTİDLER

AMP'lerin çoğu küçük moleküllerdir ve 12 ila 50 amino asit kalıntısı arasındadır (Lai ve Gallo , 2009). Çok sayıda peptid katyoniktir ve +2 ila +9 pozitif yüke sahiptir. Birkaç AMP, spesifik amino asitler bakımından zengindir, özellikle, Sistein (Cys) (Selsted ve ark., 1985), Histidin (His) (Oppenheim ve ark., 1988), Proline (Pro) (Agerberth ve ark., 1991), Glisin (Gly) (Park C ve ark., 2000), Triptofan (Trp) ve Arginin (Arg) (Chan ve ark., 2006). Ayrıca α ve β yapıları genellikle bahsedilen bu amino asitlerce zengindir (Hancock ve Lehrer, 1998; Zhang ve Sunkara, 2014).

2.1. Sistein Açısından Zengin Peptidler

Sistein açısından zengin peptidler (CRP'ler), gelişim ve bitki fizyolojisi ile ilgili bir grup amino asittir. Bu peptidler, bitkilerin büyümesi ve savunması, bitkilerin üremesi ve bitki-bakteri simbiyozu için teşvik edici oldukları tespit edilmiştir (Marshall ve ark., 2011; Aalen, 2013).

CRP'lerin yapısı gruplar arasında çok farklıdır. Ancak, hepsinin üç genel özelliği vardır: (i) 160'tan az amino asitleri vardır, dolayısıyla boyut olarak küçüktürler, (ii) N-terminalde peptid sinyalini serbest bırakan bölgesi korunmuştur ve (iii) normalde 4 ila 16 sistein rezidüsü içerir ve bunlar CRP domainlerinin C-terminalini oluşturur.

2.2. Histidin Açısından Zengin Peptidler

Histatin peptidleri, insan tükürüğünde bulunan histidin kalıntıları bakımından zengin bir katelidinin ailesi oluşturur (Oppenheim ve ark., 1988; Van der Spek ve ark., 1989;1990; Brewer ve ark., 1998; Tsai ve Bobek, 1998; Helmerhorst ve ark., 1999; Bals, 2000). 1988'de ilk histatin insan tükürük bezinden (Oppenheim ve ark., 1988) ve submandibular bez salgılarından izole edildi. Histatin bakımından zengin polipeptidler, sadece bakterilere karşı değil, aynı zamanda mantarlara karşı da geniş bir etki spektrumuna sahiptir (Van, ve ark., 1997).

Kimyasal yapıları ve amino asit dizilerine göre, çok sayıda histatin ailesi vardır. Sırasıyla 38 ve 32 amino asit sayısına sahip olan Histatin 1 ve 3 ya da diğer aile üyeleri arasında en güçlü olan ve 24 amino aside sahip olan Histatin 5 gibi (Sabatini ve Azen, 1989; Raj ve ark., 1990; Troxler ve ark., 1990). Histatin 1 ve 3, insanlarda HTN1 ve HTN3'te bulunan genler tarafından kodlanır (Van, ve ark., 1997). Nitekim histatinler, özellikle biyo-dental olmak üzere klinik deneylerde kullanılmaya başlanan insan için savunma peptidleridir (Siqueira ve ark., 2012; Khurshid ve ark., 2016).

2.3. Prolin Açısından Zengin Peptidler

PR-39 ve protegrinler, katelisinler ailesi arasında en çok çalışılan peptidler olup (Zhao ve ark., 1995; Linde ve ark., 2001) arginin açısından da zengindir (Gennaro ve ark., 2002). İlk olarak domuz bağırsağından izole edilen katyonik peptid PR-39, arginin ve prolin aminoasitleri bakımından zengindir (Agerberth ve ark., 1991), ardından PR-39 nötrofillerden izole edilmiştir (Storici ve Zanetti, 1993). Bakterilerle mücadelede önemli rol oynar (Agerberth ve ark., 1991). Prolin açısından zengin peptidler, ısı şoku proteinlerine bağlanarak hareket etme üzere tanınmıştır (Otvos ve ark., 2000). Ayrıca, PR-39 fonksiyonları nedeniyle bağışıklık tepkisi daha etkili olabilir. Sindekanların sentezini üretebilir ve ayrıca hücre yüzeyindeki heparin sülfat proteoglikanların mevcudiyeti yoluyla yara iyileşmesine öncülük edebilir (Gallo ve ark., 1994), benzer şekilde, PR-39, anti-inflamatuar özelliklere sahiptir (Shi ve ark., 1996) ve nötrofillere yönelik kemotaktik etki de görülür (Huang ve ark., 1997). Miyokard enfarktüsünün gelişimi de PR-39 yoluyla yavaşlatılabilir (Hoffmeyer ve ark., 2000) ve ayrıca PR-39 anjiyogenezi indükleyebilir (Li ve ark., 2000).

2.4. Arginin Açısından Zengin Peptidler

Arginini en temel amino asit yapan guanidinyum grubu konumu nedeniyle, AMP'yi hedef zarlara çekmenin ilk adımında, negatif yüklü bileşenlerle hidrojen bağları oluşturabilen arginin pozitif yükleri yardımcı olur. Ayrıca, CPP'ler, alımı için çok önemli olan

guanidinyumun baş grubu tarafından hareket edebilir. Arginin üzerindeki guanidinyum iyonu, bir lipid başındaki bir fosfat grubu ile iki dışı H-bağlarını şekillendirebilir, fakat aynı zamanda lipid gliserol grupları ile H-bağları da oluşturulabilir (Sun D ve ark. 2014).

2.5. Triptofan Açısından Zengin Peptidler

Triptofan (Trp) yan peptidi, mikroorganizmalara karşı güçlü aktivite sunan AMP'lerin daha büyük grubunun bir parçasıdır. Tritriptisin, 13 tane Trp rezidüsü içeren benzersiz biyokimyasal özelliklere sahip ve çok çeşitli biyolojik membranlarla etkileşime giren geniş spektrumlu zengin bir AMP'dir. Çok çeşitli bakterilere (Selsted ve ark., 1992), protozoa (Aley ve ark., 1994), HIV-1 virüslerine (Robinson ve ark., 1998; Yasin ve ark., 2000) ve mantarlara (Fallu ve ark., 1996) karşı savunmada önemli role sahiptir. İndolisidin, sıgırların nütrofil granüllerinden izole edilmiştir ve triptofan bakımından zengin olan bu peptid, bakteri zarlarından bütünlüklerini bozmadan geçebilir ve hücre içinde hareket edebilir, bu da enzimler ve nükleik asitlerle etkileşimleri sağlar. İndolicidin bir saç tokası yapısı oluşturabilir (Ladokhin ve ark., 1999).

Trp rezidülerinin varlığına ek olarak diğer birkaç faktör de antimikrobiyal aktivite için önemlidir. Bu faktörlerden biri de, peptid dizisinde N-terminaline veya karboksil ucuna yakın Trp rezidülerinin konumudur. Çünkü antimikrobiyal işlevi konumu ile belirlenir. Örneğin, karboksil ucundaki Trp varlığı, antimikrobiyal aktiviteyi inhibe edebilirken, amino ucundaki varlığı bu aktiviteyi iyileştirecektir. Bu nedenle, bu peptid antimikrobiyalinin aktivitesi, C-terminalinde katyonik rezidülere ve N-terminalinde güçlü hidrofobik rezidülere ihtiyaç duyar (Bi ve ark., 2013). Dolayısıyla AMP'lerin verimliliği, Trp rezidülerinin konumundan etkilenir (Walrant ve ark., 2011; Lécorche ve ark., 2012; Rydberg ve ark., 2012).

Trp'nin biyokimyasal özellikleri, güçlü antimikrobiyal aktivitesi katyonik Arg ile birlikte artar: Laktoferrisin, tritriptisin, lizozim, indolisidin (Pellegrini ve ark., 1997; İbrahim ve ark., 2001) ve puroindolinler (Phillips ve ark., 2011; Alfred ve ark., diğerleri 2013) Trp ve Arg içerir.

2.6. Glisin Açısından Zengin Peptidler

Condit ve Meagher (1986), glisin bakımından zengin ilk peptidi keşfettiler, glisin birçok yüksek bitkinin hücre duvarında bulunur ve Gly'nin %60'ından fazlası ökaryotik türlerin farklı dokularında bulunabilir. Bunun dışında, Ctenidin 1, 2 ve 3 olarak adlandırılan ve *E. coli*'ye karşı aktiviteye sahip örümcek *Cupiennius salei* hemositlerinden elde edilen Gly açısından zengin üç yeni peptid keşfedilmiştir (Baumann ve ark., 2010). Ayrıca guava tohumlarından izole edilen Gly bakımından zengin peptidler, *E. coli*, *Klebsiella sp.* ve *Proteus sp.* gibi gram negatif bakterilere karşı geniş bir aktivite yelpazesine sahiptir (Pelegrini ve ark., 2008). Yine ayrıca, Gly açısından zengin peptidler, mantarların ve virüslerin büyümesini engelleyebilir (Brogden KA, 2005).

Gly açısından zengin peptidler, amfibiler (El Amri ve Nicolas, 2008), eklembacaklılar (Otvos, 2000; Lorenzini ve ark., 2003; Herbiniere ve ark., 2005; Sperstad ve ark., 2009) ve bitkiler (Park ve ark., 2000; Egorov ve ark., 2005) gibi birçok taksonomik gruptan izole edilebilir.

Birincil yapıya göre, Gly açısından zengin peptidler (GGGX) motifinin tekrarlarını içerecek şekilde düzenlenmiştir (Brogden, 2005; Mangeon ve ark., 2010).

3. ANTİMİKROBİYAL PEPTİDLERİN YAPISI

AMP'ler olarak tanımlanabilecek olan peptidler, genellikle ortak olarak 'L' konfigürasyonlarında bulunan 50'den az amino asit rezisüsünden (Lai ve Gallo, 2009) oluşan moleküllerdir. Çeşitli kriterleri göre çok sayıda alt tipe ayrılabilirler. Bu kriterler şunlardır: büyüklük, yapı, köken, biyolojik etki, amino asit dizileri ve son olarak etki mekanizmasıdır.

3.1. İkincil Yapı

Genel kabul gören görüş, çoğu AMP'nin sulu ortamda genişletilmiş/yapısal olmayan bir düz zincirler şeklinde olduklarıdır (Dathe ve ark., 1996). Bu durum, moleküller arası hidrojen bağlarının varlığından dolayı açık konfigürasyonlar elde eden diğer AMP'lerde

farklıdır. Her durumda, peptidler, hedef hücrelere bağlanırken büyük konformasyonel değişiklikler yaşar. Çeşitli kriterler olmasına rağmen, bu AMP'leri ikincil bir yapıya göre sıralamak en doğrusudur (Epanand ve ark., 1999; Van't Hof W vd., 2001). Bu nedenle uzmanlar ikincil yapılarına göre 4 tip AMP (Şekil 1) önermiştir. Bunlar: uzatılmış ve halkalı peptidler (Şekil 1, c ve d) , β -tabaka (Şekil 1,b) ve α -sarmal (Şekil 1, a) peptidlerdir (Hancock ve ark., 1998; Zasloff, 2002; Takahashi ve ark., 2010; Nguyen ve ark., 2011; Pasupuleti ve ark., 2012; Steckbeck ve ark., 2014).

- **α -sarmal antimikrobiyal peptidler**

α - sarmal peptidler, en büyük, doğada en çok bulunan ve en çok araştırılan katyonik peptid ailesidir (Zasloff, 2002; Haney ve ark., 2009). Omurgasızlar, omurgalılar ve bitkilerde tespit edilmiştir. Ortalama uzunlukları 40 amino asitten az olup, antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bilinen 250'ye yakın peptid tespit edilmiştir (Brogden, 2005). Üçüncül yapıya sahip olan bu peptidler, belirgin bir amfipatik davranış sergiler (Mihajlovic ve Lazaridis, 2010) ve merkezde yapının birbiri üstüne kıvrılması ile yüksek oranda pozitif yük ile yüklenirler (Gennaro ve ark., 2000; Tossi ve ark., 2000).

- **β -tabaka antimikrobiyal peptidler**

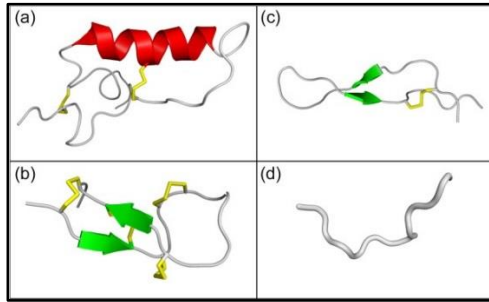
β -tabaka alt grubu, disülfid köprülerinin mevcudiyeti ile konformasyonel olarak stabilize edilmiş β -tabaka peptidleri olarak, β -hairpin yapılarına sahip çok sayıda peptidi içerir (Brogden, 2005; Yount ve ark., 2006). β -tabaka peptidleri ayrıca siklik bir konformasyon da benimseyebilir (Tossi ve Sandri, 2002). α -sarmal ve β -tabaka peptidler omurgalı hayvanlarda eşsizdir ve çoğunlukla her memeli sınıfında bulunur (Patil ve ark., 2005). β -tabaka peptidlerinin sulu bir çözelti ortamındaki yapısı, bakteri zarına bağlandıkça daha da stabilize olabilir (Yeaman ve Yount, 2003). Disülfid köprülerinin miktarı, genel yapı ve peptidin aktivitesi üzerinde önemli etkiye sahiptir. Bunun dışında siklik yapı da, antimikrobiyal aktivite için gerekli olabilir (Matsuzaki ve ark., 1997; Rao, 1999).

- **genişletilmiş antimikrobiyal peptidler**

Katyonyk doğrusal uzatılmış AMP'ler tuhaf amino bileşimini sunarlar. Yapı açısından, bu peptidler, bir amino asidin veya daha fazlasının aşırı ekspresyonu ile karakterize edilen doğrusal bir şekle sahiptir. Bu alt grup, ne β -tabakasında ne de α -sarmaldaki gibi herhangi bir ikincil yapı sunmayan yaklaşık 90 peptid içerir. Bu peptidlerin bir kısmı, insan tükürüğünde bulunan histatine benzer şekilde yüksek miktarda histidin amino asidine sahiptir (Brewer ve ark., 1998; Tsai ve Bobek, 1998). Ancak PR-39 peptidinde, arginin ve prolin kalıntıları bol miktarda bulunur (Takahashi ve ark., 2010; Nguyen ve ark., 2011). Propenin antimikrobiyal peptidinde ise fenilalanin ve prolin çokça bulunur. Bu peptidlerin dikkate değer bir özelliği, sulu çözeltideki esneklikleridir. Bununla birlikte, genişletilmiş peptidler, antiparazitik ve mantar öldürücü olmalarına rağmen ne bakterisidal ne de bakteriyostatiktir (Luque-Ortega ve ark., 2008). Dolayısıyla bu peptidlerin çoğu membranda aktif değildir.

- **döngüsel antimikrobiyal peptidler**

Bu alt grupta prolin-arginin bol peptidler, prolin rezidülerinin aşırı ekspresyonu nedeniyle amfipatik yapılar oluşturma yeteneğine sahip değildir. Alternatif olarak bir poliprolin sarmal tip-II yapısı oluşur (Boman ve ark., 1993; Cabiaux ve ark., 1994).



Şekil 1 İkincil Yapısına Göre Antimikrobiyal Peptidler
(Ahmed ve Hammami. 2019)

İlginç bir şekilde, herhangi bir canlı organizma, bu dört tip AMP'lerin çeşitli sınıflarını üretme kabiliyetine sahiptir (Hancock ve Diamond, 2000). AMP'ler arasında var olan bu tür yapısal çeşitliliğin

en az dört olası nedeni olduğunu belirtilmiştir. AMP'ler hakkında bilinmesi gereken ilk önemli durum, AMP'lerin aktivite spektrumu nispeten geniş olabilirken , konakçının karşılaştığı her patojene karşı aktif değildir. Bu durum, daha sonra, konakçının doğal savunma sistemlerinin patojenlere karşı artışını sağlayan farklı, ancak üst üste binen çok sayıda aktiviteye çeşitli AMP'ler üretmesine yol açar. İkincisi, farklı yapılar gösteren AMP'lerin sinerjistik olarak hareket ederek birlikte çalışabilmesidir. Üçüncüsü, AMP'ler, sınıflar arasında değişen proinflatuar veya kemotaktik aktiviteler gibi antimikrobiyal olmayan ilginç özelliklere sahiptir. Dördüncü ve son olarak, çeşitli hücre türleri, birbirini tamamlayan çeşitli türlerde AMP'ler üretir.

4. OMURGASIZ ANTİMİKROBİYAL PEPTİDLERİ

4.1. Sucul Omurgasızlarda Antimikrobiyal Peptidler

Omurgasızlar, denizel canlılardaki antimikrobiyal peptidlerin ana kaynağıdır. Bu peptidler, deniz omurgasızlarının bağışıklık savunması için gerekli elementlerdir (Tincu ve Taylor, 2004). Patojenik mikroorganizmalara karşı savunmada yer alan immünreaksiyonları modüle etmek için yapısal olarak eksprese edilirler ve hızla indüklenirler. Bu bağlamda, bu antimikrobiyal peptidler, enfeksiyona karşı ana hümorale savunma sistemini temsil eder. Deniz omurgasızları, okyanus ortamından sürekli olarak muazzam bir mikrobiyal tehdit altındadır. Son yirmi yılda, knidaryalar, yumuşakçalar, annelidler, eklembacaklılar ve Tunicata (tulumlular) dâhil olmak üzere deniz omurgasızlarından bir dizi antimikrobiyal peptid izole edilmiştir (Tablo 1).

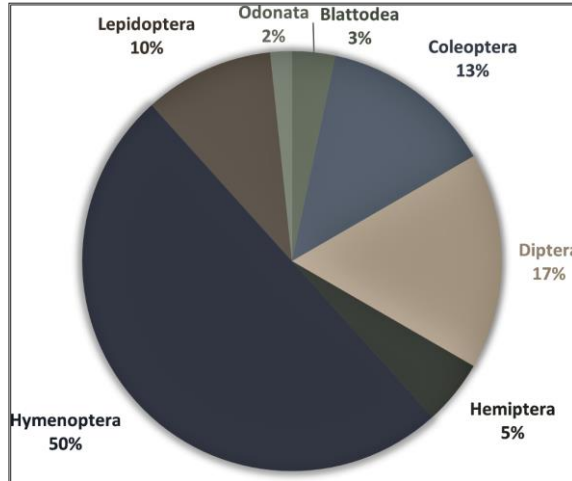
Tablo 1 Sucul Omurgasızlarından Elde Edilen Antimikrobiyal Peptidler ve Aktiviteleri (Wu ve ark., 2021)

Organizma	AMP tipi	Orijin	aa sayısı	Sistein sayısı	Aktivite
Annelidler (Halkalı solucanlar)	Arenicin	Sölomosit	21	2	G ⁺ , G ⁻ , F
	Perinerin	Homojenat	51	4	G ⁺ , G ⁻ , F
	Hedistin	Sölomosit	22	0	G ⁺ , G ⁻ , F
Mollusca (Yumuşakçalar)	Defensin	Hemosit	39-43	6-8	G ⁺ , G ⁻
	Mytilin	Hemosit	32-34	8	G ⁺ , G ⁻ , F
	Myticin	Hemosit	40	8	G ⁺ , G ⁻ , F

	Mytimycin	Hemosit	54	12	F
Arthropoda (Eklembacaklılar)	Tachyplesin	Hemosit	17	4	G ⁺ , G ⁻ , F
	Polyphemusin	Hemosit	18	4	G ⁺ , G ⁻ , F
	Penaeidin	Hemosit	47-67	6	G ⁺ , G ⁻ , F
Cnidaria(Knidaryalar)	Aurelin	Ektoplazma	40	6	G ⁺ , G ⁻
Tunicata (Tulumlular)	Styelin	Hemosit	31-32	0	G ⁺ , G ⁻
	Clavanin	Hemosit	23	0	G ⁺ , G ⁻ , F
	Clavaspirin	Farinks	23	0	G ⁺ , G ⁻ , F
	Plicatamid	Hemosit	26	0	G ⁺ , G ⁻
	Halocyamin	Hemosit	4	0	G ⁺ , G ⁻ , F
	Dicynthaurin	Hemosit	30	2	G ⁺ , G ⁻
	Halocidin	Hemosit	18	2	G ⁺ , G ⁻ , F

4.2. Böcek Antimikrobiyal Peptidleri

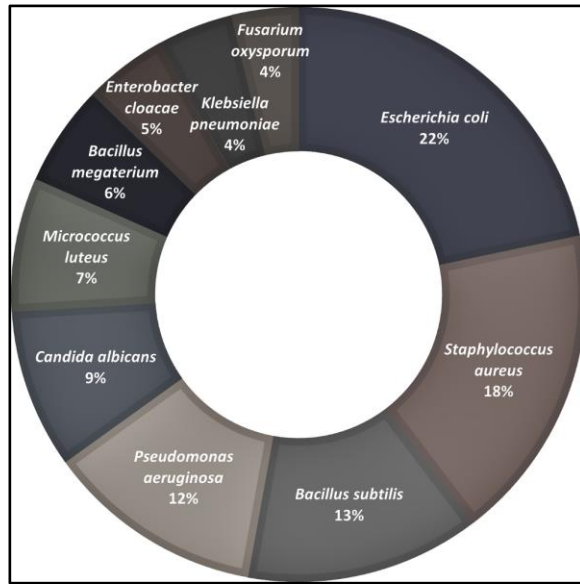
Böceklerden elde edilen antimikrobiyal peptidler üzerine 2022 yılına kadar yaklaşık 70 kadar araştırma yapılmıştır. Toplam 58 böcek türünden 98 adet farklı antiikrobiyal peptid tespit edilmiştir (Azmiara ve ark., 2022).Çalışılan böcek takımları; Blattodea, Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Lepidoptera ve Odonata olmak üzere dağılımları aşağıdaki gibidir. En çok çalışılan grup olan Hymenoptera takımı içinde, toplam tür sayısı 18 (%62) ile en çok yaban arıları incelenmiş olup, bunu arılar (%24) ve karıncalar (%14) izlemiştir ve toplamda 30 tür çalışılmıştır.



Şekil 2 Takımlara Göre İncelenen Antimikrobiyal Peptidlerin Yüzde Oranları (Azmiara ve ark. 2022)

Böceklerde antimikrobiyal peptidler larva, pupa, ergin birey, hemolenf sıvısı, venom sıvısı, venom bezleri ve sentetik olarak peptid dizilerinden elde edilmektedir. İzolasyon teknikleri ise; Ters Faz HPLC, Solid Faz HPLC, RNA izolasyonu, cDNA klonlama, iyon değişim kromatografisi ve FPLC (Fast Performance Liqueq Chromatography) ile yapılmaktadır.

Böceklerden elde edilen bu antimikrobiyal peptidlerin % 46'sı türe özgü peptidler olmakla birlikte, %16'sı Defensin, %8'i Cecropin, %7'si Mastropan gibi benzer peptidleri içermektedir (Azmiara ve ark., 2022). Böceklerden elde edilen bu peptidler çeşitli mikroorganizmalara karşı çokça test edilmiştir ve etkin oldukları mikroorganizmaların yüzdesi Şekil 3'te verilmiştir.



Şekil 3 Böceklerden İzole Edilen AMP'lerin Etkili Olduğu Mikroorganizmalar (Azmiara ve ark. 2022)

4.3. Böcek AMP'lerinin Potansiyel Kullanımları

Son yıllarda yaraların, yanıkların, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan kremler, merhemler gibi AMP içeren topikal formülasyonların geliştirilmesine oldukça ilgi vardır (Ongey ve ark., 2018; Thapa ve ark., 2020). Birkaç çalışma, kanseri

önlemek için böcek AMP'lerini kullanma olasılığını belirtmiştir (Tonk ve ark., 2016; Brady ve ark., 2019). Böcek AMP'lerinin tıp alanında bir başka olası uygulaması, bakteri biyofilminin büyümesini önlemek için yapay nakiller gibi tıbbi cihazlar için bir biyomateryal olarak kullanılmasıdır (Brady ve ark., 2019).

Bununla birlikte, AMP'lerin sistemik kullanımı, sınırlı sistemik biyoyararlanımları, peptid stabilitesinin olmaması ve yüksek üretim maliyetleri nedeniyle çeşitli sorunlarla ilişkilendirilebilir. 3000'den fazla AMP karakterize edilmiş olmasına rağmen, bunlardan sadece yedi tanesi FDA tarafından onaylanmıştır ve çok azı halen geliştirilmektedir (Chen ve Lu, 2020). Örneğin, LL-37 diyabetik ayak ülserlerinin tedavisinde antimikrobiyal aktivitesinin araştırılması için faz II klinik çalışmalara girmiştir. Ayrıca LTX-109, Gram pozitif cilt enfeksiyonları ve impetigonun topikal tedavisi için kullanıma uygun bulunmuştur. Üretim maliyetlerini en aza indirmek için daha kısa AMP zincirlerinin kullanılmasını önerilmiştir. Ancak böceklerdeki AMP'lerin rutinde uygulanabilir olup olmadığı hala tartışmalıdır.

AMP'lerin, gıda muhafazası ve kozmetik üretimi gibi diğer tıbbi olmayan uygulamalarda da faydalı olduğu gösterilmiştir (de Souza, 2009). Son zamanlarda yapılan bir çalışma, böceklerden elde edilen AMP'lerin gıdalarda doğal koruyucular olarak geliştirilme potansiyeline sahip olduğunu ve böylece kimyasal koruyucuların kullanımını azalttığını göstermiştir (Dang ve ark., 2020; Chen ve ark., 2021). Bu arada, kozmetik amaçlı olarak, böceklerdeki AMP'ler cilt patojenlerine karşı etkili antimikrobiyal aktiviteler sergilemiştir ve bu da onları cilt bakımı, sabun, şampuan ve diğerlerinin üretimi için faydalı kılmaktadır (Rahnamaeian ve Vilcinskas, 2015).

Sonuç olarak, böcekler, sürekli artan mikrobiyal direncin üstesinden gelmek için alternatif antimikrobiyal ajanlar olarak geliştirilme potansiyeline sahip birkaç AMP'ye sahiptir ve ayrıca kozmetik ve gıda gibi farklı alanlarda da kullanılabilir. Peptidlerin çoğu katyonik yapıları nedeniyle mikropların hücre zarına bağlanarak ve gözenek oluşturarak çalışırlar ve AMP'lerin alfa sarmal şekli, bakteri hücre zarına iyi uyum sağlamalarına yardımcı olmaktadır. Mevcut çalışmaların çoğu, çok sayıda böcek türünden peptid karakterizasyonu

ile sınırlı olmasına rağmen, AMP'lerin etki mekanizmasını düzenlemekten sorumlu yolları ve genleri anlamak için bir adım daha ilerlemiş çalışmalar bulunmaktadır. Böceklerden sürekli olarak yeni AMP'ler keşfetmek önemli olmakla birlikte, peptid yolaklarının yukarı ve aşağı yönlü regülasyonunu kavrama yönünde daha çok araştırmaya ihtiyaç vardır. Bu bilgi ile böcek AMP'lerinin ve bunların sentetik bileşiklerinin daha faydalı amaçlar için uygulanması ve seri üretimi yakın gelecekte gerçekleştirilebilir (Azmiera ve ark., 2022).

4.4. Kene Defensinleri ve Antimikrobiyal Etkileri

Yapılan çalışmalar defensinlerin keneler için doğuştan gelen bağışıklığında ayrılmaz bir AMP sınıfı oluşturduğunu göstermektedir. Defensinlerin mikroplarla nasıl reaksiyona girdiğine dair araştırmalar, kene-konak-patojen etkileşiminin önemli bir parçası olan keneler ve patojenler arasındaki teması anlamamıza yardımcı olur. Kene defensinlerinin fonksiyonel karakterizasyonunda büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Çalışmaların büyük bir kısmı antifungal, antibakteriyel ve antiprotozoal etkilerini bildirmiştir ve birkaç bulgu virüslere karşı aktivitelerini tanımlamıştır. Buna karşılık, biyolojik aktiviteyi etkileyen yapısal faktörlerin ortaya çıkarılması için bir sınırlama olan kene defensinin üç boyutlu yapısı çözümlenmemiştir. Kene defensinlerinden türetilen minimum fonksiyonel motifin belirlenmesi, enfeksiyonların tedavisinde terapötik ajanlar olarak bu defensinlerin geliştirilmesi için önemli olacaktır (Wu ve ark., 2022).

4.5. Çıyan Zehirlerinin Terapötik Potansiyeli ve Bileşenleri

Çıyanlardan Scolopin, Scolopendin, Scolopendrasin, Scolonase, Centipede asidik protein (CAP) gibi yaklaşık 50 tip antimikrobiyal peptid izole edilmiştir. Çıyan zehirleri, farmakolojik açıdan önemli protein ve peptidlerin zengin bir kaynağını oluşturur. Bu zamana kadar tanımlanan bileşenler, terapötik uygulamalar için faydalı olabilir. Şimdiye kadar, kronik ağrı, hipertansiyon ve diyabet olmak üzere çeşitli patofizyolojik durumların tedavisinde kullanım için yalnızca birkaç zehir türevi ilaç onaylanmıştır. Bu nedenle, tüm terapötik bileşenleri keşfetmek için çıyan zehri daha kapsamlı bir şekilde

araştırılmalıdır. Bununla birlikte, mükemmel farmakolojik aktivitelere sahip birkaç düzine zehirden türetilmiş peptid ve protein de şu anda klinik deneylerden geçmektedir (Hakim ve ark.,2015).

5. SONUÇ

Sonuç olarak omurgasızlardan çok çeşitli antimikrobiyal peptidler elde edilmektedir ve bunların yüksek terapötik potansiyelleri bulunmaktadır. Günümüzde baş gösteren ve gelecekte büyük sağlık problemlerine neden olabilecek antibiyotik direnci olgusu karşısında özellikle böcek antimikrobiyal peptidleri alternatif antibiyotikler olarak değerlendirilebilir. Son yıllarda artan ilgi ile omurgasız antimikrobiyal peptidleri ilaç endüstrisi için de kaynak oluşturma potansiyeline sahiptir.

KAYNAKÇA

- Aalen R. B. (2013). Maturing peptides open for communication. *Journal of experimental botany*, 64(17), 5231–5235. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert378>.
- Agerberth, B., Lee, J. Y., Bergman, T., Carlquist, M., Boman, H. G., Mutt, V., & Jörnvall, H. (1991). Amino acid sequence of PR-39. Isolation from pig intestine of a new member of the family of proline-arginine-rich antibacterial peptides. *European journal of biochemistry*, 202(3), 849–854. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1991.tb16442.x>.
- Agerberth, B., Lee, J. Y., Bergman, T., Carlquist, M., Boman, H. G., Mutt, V., & Jörnvall, H. (1991). Amino acid sequence of PR-39. Isolation from pig intestine of a new member of the family of proline-arginine-rich antibacterial peptides. *European journal of biochemistry*, 202(3), 849–854. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1991.tb16442.x>.
- Aley, S. B., Zimmerman, M., Hetsko, M., Selsted, M. E., & Gillin, F. D. (1994). Killing of *Giardia lamblia* by cryptdins and cationic neutrophil peptides. *Infection and immunity*, 62(12), 5397–5403. <https://doi.org/10.1128/iai.62.12.5397-5403.1994>.
- Alfred, R. L., Palombo, E. A., Panozzo, J. F., Bariana, H., & Bhave, M. (2013). Stability of puroidoline peptides and effects on wheat rust. *World journal of microbiology & biotechnology*, 29(8), 1409–1419. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1304-6>.
- Ali, H. E.-S. (2007). Synthesis, Surface Properties and Antimicrobial Activity of Bolaamphiphile/Oppositely Charged Conventional Surfactant Mixed Systems. *Journal of Surfactants and Detergents*, 10(2), 117-124. <https://doi.org/10.1007/s11743-007-1021-y>.
- Azmiera, N., Krasilnikova, A., Sahudin, S., Al-Talib, H., & Heo, C. C. (2022). Antimicrobial peptides isolated from insects and their potential applications. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 25(2), 101892. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aspen.2022.101892>.

- Bals R. (2000). Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infection. *Respiratory research*, 1(3), 141–150. <https://doi.org/10.1186/rr25>.
- Baumann, T., Kämpfer, U., Schürch, S., Schaller, J., Largiadèr, C., Nentwig, W., & Kuhn-Nentwig, L. (2010). Ctenidins: antimicrobial glycine-rich peptides from the hemocytes of the spider *Cupiennius salei*. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 67(16), 2787–2798. <https://doi.org/10.1007/s00018-010-0364-0>.
- Bi, X., Wang, C., Ma, L., Sun, Y., & Shang, D. (2013). Investigation of the role of tryptophan residues in cationic antimicrobial peptides to determine the mechanism of antimicrobial action. *Journal of applied microbiology*, 115(3), 663–672. <https://doi.org/10.1111/jam.12262>.
- Boman, H. G., Agerberth, B., & Boman, A. (1993). Mechanisms of action on *Escherichia coli* of cecropin P1 and PR-39, two antibacterial peptides from pig intestine. *Infection and immunity*, 61(7), 2978–2984. <https://doi.org/10.1128/iai.61.7.2978-2984.1993>.
- Brady, D., Grapputo, A., Romoli, O., & Sandrelli, F. (2019). Insect Cecropins, Antimicrobial Peptides with Potential Therapeutic Applications. *International journal of molecular sciences*, 20(23), 5862. <https://doi.org/10.3390/ijms20235862>.
- Brewer, D., Hunter, H., & Lajoie, G. (1998). NMR studies of the antimicrobial salivary peptides histatin 3 and histatin 5 in aqueous and nonaqueous solutions. *Biochemistry and cell biology = Biochimie et biologie cellulaire*, 76(2-3), 247–256. <https://doi.org/10.1139/bcb-76-2-3-247>.
- Brogden K. A. (2005). Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria?. *Nature reviews. Microbiology*, 3(3), 238–250. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1098>.
- Cabiaux, V., Agerberth, B., Johansson, J., Homblé, F., Goormaghtigh, E., & Ruyschaert, J. M. (1994). Secondary structure and membrane interaction of PR-39, a Pro+Arg-rich antibacterial

- peptide. *European journal of biochemistry*, 224(3), 1019–1027. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1994.01019.x>.
- Chan, D. I., Prenner, E. J., & Vogel, H. J. (2006). Tryptophan- and arginine-rich antimicrobial peptides: structures and mechanisms of action. *Biochimica et biophysica acta*, 1758(9), 1184–1202. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2006.04.006>.
- Chen, C. H., & Lu, T. K. (2020). Development and Challenges of Antimicrobial Peptides for Therapeutic Applications. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 9(1), 24. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9010024>.
- Chen, S., Wei, X., Sui, Z., Guo, M., Geng, J., Xiao, J., & Huang, D. (2021). Preparation of Antioxidant and Antibacterial Chitosan Film from *Periplaneta americana*. *Insects*, 12(1), 53. <https://doi.org/10.3390/insects12010053>.
- Chen, Y., Guarnieri, M. T., Vasil, A. I., Vasil, M. L., Mant, C. T., & Hodges, R. S. (2007). Role of peptide hydrophobicity in the mechanism of action of α -helical antimicrobial peptides. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(4), 1398–1406.
- Condit, C. M., & Meagher, R. B. (1986). A gene encoding a novel glycine-rich structural protein of petunia. *Nature*, 323(6084), 178–181. <https://doi.org/10.1038/323178a0>.
- Dang, X., Zheng, X., Wang, Y., Wang, L., Ye, L., & Jiang, J. (2020). Antimicrobial peptides from the edible insect *Musca domestica* and their preservation effect on chilled pork. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(3), e14369.
- Dathe, M., Schümann, M., Wieprecht, T., Winkler, A., Beyermann, M., Krause, E., Matsuzaki, K., Murase, O., & Bienert, M. (1996). Peptide helicity and membrane surface charge modulate the balance of electrostatic and hydrophobic interactions with lipid bilayers and biological membranes. *Biochemistry*, 35(38), 12612–12622. <https://doi.org/10.1021/bi960835f>.
- de Souza, B. M., da Silva, A. V., Resende, V. M., Arcuri, H. A., Dos Santos Cabrera, M. P., Ruggiero Neto, J., & Palma, M. S. (2009). Characterization of two novel polyfunctional

- mastoparan peptides from the venom of the social wasp *Polybia paulista*. *Peptides*, 30(8), 1387–1395. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2009.05.008>.
- Di Francesco, A., Favaroni, A., & Donati, M. (2013). Host defense peptides: general overview and an update on their activity against *Chlamydia* spp. *Expert review of anti-infective therapy*, 11(11), 1215–1224. <https://doi.org/10.1586/14787210.2013.841450>.
- Diamond, G., Beckloff, N., Weinberg, A., & Kisich, K. O. (2009). The roles of antimicrobial peptides in innate host defense. *Current pharmaceutical design*, 15(21), 2377–2392. <https://doi.org/10.2174/138161209788682325>.
- Egorov, T. A., Odintsova, T. I., Pukhalsky, V. A., & Grishin, E. V. (2005). Diversity of wheat anti-microbial peptides. *Peptides*, 26(11), 2064–2073. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2005.03.007>.
- El Amri, C., & Nicolas, P. (2008). Plasticins: membrane-damaging peptides with 'chameleon-like' properties. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 65(6), 895–909. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7445-8>.
- Epanand, R. M., & Vogel, H. J. (1999). Diversity of antimicrobial peptides and their mechanisms of action. *Biochimica et biophysica acta*, 1462(1-2), 11–28. [https://doi.org/10.1016/s0005-2736\(99\)00198-4](https://doi.org/10.1016/s0005-2736(99)00198-4).
- Falla, T. J., Karunaratne, D. N., & Hancock, R. E. (1996). Mode of action of the antimicrobial peptide indolicidin. *The Journal of biological chemistry*, 271(32), 19298–19303. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.32.19298>.
- Fernández-Vidal, M., Jayasinghe, S., Ladokhin, A. S., & White, S. H. (2007). Folding amphipathic helices into membranes: amphiphilicity trumps hydrophobicity. *Journal of molecular biology*, 370(3), 459–470. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.05.016>.
- Fjell, C. D., Hiss, J. A., Hancock, R. E., & Schneider, G. (2011). Designing antimicrobial peptides: form follows function. *Nature*

- reviews. *Drug discovery*, 11(1), 37–51.
<https://doi.org/10.1038/nrd3591>.
- Gallo, R. L., Ono, M., Povsic, T., Page, C., Eriksson, E., Klagsbrun, M., & Bernfield, M. (1994). Syndecans, cell surface heparan sulfate proteoglycans, are induced by a proline-rich antimicrobial peptide from wounds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(23), 11035–11039. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.23.11035>.
- Gennaro, R., & Zanetti, M. (2000). Structural features and biological activities of the cathelicidin-derived antimicrobial peptides. *Biopolymers*, 55(1), 31–49.
[https://doi.org/10.1002/1097-0282\(2000\)55:1<31::AID-BIP40>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/1097-0282(2000)55:1<31::AID-BIP40>3.0.CO;2-9).
- Guaní-Guerra, E., Santos-Mendoza, T., Lugo-Reyes, S. O., & Terán, L. M. (2010). Antimicrobial peptides: general overview and clinical implications in human health and disease. *Clinical immunology* (Orlando, Fla.), 135(1), 1–11.
<https://doi.org/10.1016/j.clim.2009.12.004>.
- Hakim MA, Yang S, Lai R. Centipede venoms and their components: resources for potential therapeutic applications. *Toxins* (Basel). 2015 Nov 17;7(11):4832-51. doi: 10.3390/toxins7114832. PMID: 26593947; PMCID: PMC4663536.
- Hakim, M. A., Yang, S., & Lai, R. (2015). Centipede venoms and their components: resources for potential therapeutic applications. *Toxins*, 7(11), 4832–4851.
<https://doi.org/10.3390/toxins7114832>.
- Hancock, R. E., & Diamond, G. (2000). The role of cationic antimicrobial peptides in innate host defences. *Trends in microbiology*, 8(9), 402–410. [https://doi.org/10.1016/s0966-842x\(00\)01823-0](https://doi.org/10.1016/s0966-842x(00)01823-0).
- Hancock, R. E., & Lehrer, R. (1998). Cationic peptides: a new source of antibiotics. *Trends in biotechnology*, 16(2), 82–88.
[https://doi.org/10.1016/s0167-7799\(97\)01156-6](https://doi.org/10.1016/s0167-7799(97)01156-6).
- Hancock, R. E., & Rozek, A. (2002). Role of membranes in the activities of antimicrobial cationic peptides. *FEMS*

- microbiology letters*, 206(2), 143–149.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2002.tb11000.x>.
- Hancock, R. E., & Sahl, H. G. (2006). Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies. *Nature biotechnology*, 24(12), 1551–1557.
<https://doi.org/10.1038/nbt1267>.
- Hancock, R. E., Nijnik, A., & Philpott, D. J. (2012). Modulating immunity as a therapy for bacterial infections. *Nature reviews. Microbiology*, 10(4), 243–254.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro2745>.
- Haney, E. F., Nazmi, K., Lau, F., Bolscher, J. G., & Vogel, H. J. (2009). Novel lactoferrampin antimicrobial peptides derived from human lactoferrin. *Biochimie*, 91(1), 141–154.
<https://doi.org/10.1016/j.biochi.2008.04.013>.
- Helmerhorst, E. J., Breeuwer, P., van't Hof, W., Walgreen-Weterings, E., Oomen, L. C., Veerman, E. C., Amerongen, A. V., & Abee, T. (1999). The cellular target of histatin 5 on *Candida albicans* is the energized mitochondrion. *The Journal of biological chemistry*, 274(11), 7286–7291.
<https://doi.org/10.1074/jbc.274.11.7286>.
- Helmerhorst, E. J., Van't Hof, W., Veerman, E. C., Simoons-Smit, I., & Nieuw Amerongen, A. V. (1997). Synthetic histatin analogues with broad-spectrum antimicrobial activity. *The Biochemical journal*, 326 (Pt 1)(Pt 1), 39–45.
<https://doi.org/10.1042/bj3260039>.
- Herbinière, J., Braquart-Varnier, C., Grève, P., Strub, J. M., Frère, J., Van Dorsselaer, A., & Martin, G. (2005). Armadillidin: a novel glycine-rich antibacterial peptide directed against gram-positive bacteria in the woodlouse *Armadillidium vulgare* (Terrestrial Isopod, Crustacean). *Developmental and comparative immunology*, 29(6), 489–499.
<https://doi.org/10.1016/j.dci.2004.11.001>.
- Hoffmeyer, M. R., Scalia, R., Ross, C. R., Jones, S. P., & Lefer, D. J. (2000). PR-39, a potent neutrophil inhibitor, attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury in mice. *American*

journal of physiology. Heart and circulatory physiology, 279(6), H2824–H2828.

<https://doi.org/10.1152/ajpheart.2000.279.6.H2824>.

Huang, H. J., Ross, C. R., & Blecha, F. (1997). Chemoattractant properties of PR-39, a neutrophil antibacterial peptide. *Journal of leukocyte biology*, 61(5), 624–629. <https://doi.org/10.1002/jlb.61.5.624>.

Ibrahim, H. R., Thomas, U., & Pellegrini, A. (2001). A helix-loop-helix peptide at the upper lip of the active site cleft of lysozyme confers potent antimicrobial activity with membrane permeabilization action. *The Journal of biological chemistry*, 276(47), 43767–43774. <https://doi.org/10.1074/jbc.M106317200>.

Khurshid, Z., Zafar, M. S., Zohaib, S., Najeeb, S., & Naseem, M. (2016). Green Tea (*Camellia Sinensis*): Chemistry and Oral Health. *The open dentistry journal*, 10, 166–173. <https://doi.org/10.2174/1874210601610010166>.

Ladokhin, A. S., Selsted, M. E., & White, S. H. (1999). CD spectra of indolicidin antimicrobial peptides suggest turns, not polyproline helix. *Biochemistry*, 38(38), 12313–12319. <https://doi.org/10.1021/bi9907936>.

Lai, Y., & Gallo, R. L. (2009). AMPed up immunity: how antimicrobial peptides have multiple roles in immune defense. *Trends in immunology*, 30(3), 131–141. <https://doi.org/10.1016/j.it.2008.12.003>.

Lécorché, P., Walrant, A., Burlina, F., Dutot, L., Sagan, S., Mallet, J. M., Desbat, B., Chassaing, G., Alves, I. D., & Lavielle, S. (2012). Cellular uptake and biophysical properties of galactose and/or tryptophan containing cell-penetrating peptides. *Biochimica et biophysica acta*, 1818(3), 448–457. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.12.003>.

Li, J., Post, M., Volk, R., Gao, Y., Li, M., Metais, C., Sato, K., Tsai, J., Aird, W., Rosenberg, R. D., Hampton, T. G., Sellke, F., Carmeliet, P., & Simons, M. (2000). PR39, a peptide regulator

- of angiogenesis. *Nature medicine*, 6(1), 49–55. <https://doi.org/10.1038/71527>.
- Linde, C. M., Hoffner, S. E., Refai, E., & Andersson, M. (2001). In vitro activity of PR-39, a proline-arginine-rich peptide, against susceptible and multi-drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 47(5), 575–580. <https://doi.org/10.1093/jac/47.5.575>.
- Lorenzini, D. M., da Silva, P. I., Jr, Fogaça, A. C., Bulet, P., & Daffre, S. (2003). Acanthoscurrin: a novel glycine-rich antimicrobial peptide constitutively expressed in the hemocytes of the spider *Acanthoscurria gomesiana*. *Developmental and comparative immunology*, 27(9), 781–791. [https://doi.org/10.1016/s0145-305x\(03\)00058-2](https://doi.org/10.1016/s0145-305x(03)00058-2).
- Luque-Ortega, J. R., van't Hof, W., Veerman, E. C., Saugar, J. M., & Rivas, L. (2008). Human antimicrobial peptide histatin 5 is a cell-penetrating peptide targeting mitochondrial ATP synthesis in *Leishmania*. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 22(6), 1817–1828. <https://doi.org/10.1096/fj.07-096081>.
- Mangeon, A., Junqueira, R. M., & Sachetto-Martins, G. (2010). Functional diversity of the plant glycine-rich proteins superfamily. *Plant signaling & behavior*, 5(2), 99–104. <https://doi.org/10.4161/psb.5.2.10336>.
- Marr, A. K., Gooderham, W. J., & Hancock, R. E. (2006). Antibacterial peptides for therapeutic use: obstacles and realistic outlook. *Current opinion in pharmacology*, 6(5), 468–472. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2006.04.006>.
- Marshall, E., Costa, L. M., & Gutierrez-Marcos, J. (2011). Cysteine-rich peptides (CRPs) mediate diverse aspects of cell-cell communication in plant reproduction and development. *Journal of experimental botany*, 62(5), 1677–1686. <https://doi.org/10.1093/jxb/err002>.
- Matsuzaki, K., Yoneyama, S., Fujii, N., Miyajima, K., Yamada, K., Kirino, Y., & Anzai, K. (1997). Membrane permeabilization mechanisms of a cyclic antimicrobial peptide, tachyplesin I, and

- its linear analog. *Biochemistry*, 36(32), 9799–9806.
<https://doi.org/10.1021/bi970588v>.
- Mihajlovic, M., & Lazaridis, T. (2010). Antimicrobial peptides bind more strongly to membrane pores. *Biochimica et biophysica acta*, 1798(8), 1494–1502.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2010.02.023>.
- Nguyen, L. T., Haney, E. F., & Vogel, H. J. (2011). The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action. *Trends in biotechnology*, 29(9), 464–472.
<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.05.001>.
- Ongey, E. L., Pflugmacher, S., & Neubauer, P. (2018). Bioinspired Designs, Molecular Premise and Tools for Evaluating the Ecological Importance of Antimicrobial Peptides. *Pharmaceuticals* (Basel, Switzerland), 11(3), 68.
<https://doi.org/10.3390/ph11030068>.
- Oppenheim, F. G., Xu, T., McMillian, F. M., Levitz, S. M., Diamond, R. D., Offner, G. D., & Troxler, R. F. (1988). Histatins, a novel family of histidine-rich proteins in human parotid secretion. Isolation, characterization, primary structure, and fungistatic effects on *Candida albicans*. *The Journal of biological chemistry*, 263(16), 7472–7477.
- Otvos, L., Jr, O, I., Rogers, M. E., Consolvo, P. J., Condie, B. A., Lovas, S., Bulet, P., & Blaszczyk-Thurin, M. (2000). Interaction between heat shock proteins and antimicrobial peptides. *Biochemistry*, 39(46), 14150–14159.
<https://doi.org/10.1021/bi0012843>.
- Park, C. J., Park, C. B., Hong, S. S., Lee, H. S., Lee, S. Y., & Kim, S. C. (2000). Characterization and cDNA cloning of two glycine- and histidine-rich antimicrobial peptides from the roots of shepherd's purse, *Capsella bursa-pastoris*. *Plant molecular biology*, 44(2), 187–197.
<https://doi.org/10.1023/a:1006431320677>.
- Pasupuleti, M., Schmidtchen, A., & Malmsten, M. (2012). Antimicrobial peptides: key components of the innate immune

- system. *Critical reviews in biotechnology*, 32(2), 143–171. <https://doi.org/10.3109/07388551.2011.594423>.
- Patil, A. A., Cai, Y., Sang, Y., Blecha, F., & Zhang, G. (2005). Cross-species analysis of the mammalian beta-defensin gene family: presence of syntenic gene clusters and preferential expression in the male reproductive tract. *Physiological genomics*, 23(1), 5–17. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00104.2005>.
- Pelegriani, P. B., Murad, A. M., Silva, L. P., Dos Santos, R. C., Costa, F. T., Tagliari, P. D., Bloch, C., Jr, Noronha, E. F., Miller, R. N., & Franco, O. L. (2008). Identification of a novel storage glycine-rich peptide from guava (*Psidium guajava*) seeds with activity against Gram-negative bacteria. *Peptides*, 29(8), 1271–1279. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2008.03.013>.
- Pellegrini, A., Thomas, U., Bramaz, N., Klausner, S., Hunziker, P., & von Fellenberg, R. (1997). Identification and isolation of a bactericidal domain in chicken egg white lysozyme. *Journal of applied microbiology*, 82(3), 372–378. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1997.00372.x>.
- Phillips, R.L., Palombo, E.A., Panozzo, J.F., Bhave, M. (2011). Puroindo- lines, Pin alleles, hordoinlines and grain softness proteins are sources of bactericidal and fungicidal peptides. *J Cereal Sci*, 53:112–7.
- Rahnamaeian, M., & Vilcinskis, A. (2015). Short antimicrobial peptides as cosmetic ingredients to deter dermatological pathogens. *Applied microbiology and biotechnology*, 99(21), 8847–8855. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6926-1>.
- Raj, P. A., Edgerton, M., & Levine, M. J. (1990). Salivary histatin 5: dependence of sequence, chain length, and helical conformation for candidacidal activity. *The Journal of biological chemistry*, 265(7), 3898–3905.
- Rao A. G. (1999). Conformation and antimicrobial activity of linear derivatives of tachyplesin lacking disulfide bonds. *Archives of biochemistry and biophysics*, 361(1), 127–134. <https://doi.org/10.1006/abbi.1998.0962>.

- Reddy, K. V., Yedery, R. D., & Aranha, C. (2004). Antimicrobial peptides: premises and promises. *International journal of antimicrobial agents*, 24(6), 536–547. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2004.09.005>.
- Robinson, W. E., Jr, McDougall, B., Tran, D., & Selsted, M. E. (1998). Anti-HIV-1 activity of indolicidin, an antimicrobial peptide from neutrophils. *Journal of leukocyte biology*, 63(1), 94–100. <https://doi.org/10.1002/jlb.63.1.94>.
- Rydberg, H. A., Carlsson, N., & Nördén, B. (2012). Membrane interaction and secondary structure of de novo designed arginine-and tryptophan peptides with dual function. *Biochemical and biophysical research communications*, 427(2), 261–265. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.09.030>.
- Sabatini, L. M., & Azen, E. A. (1989). Histatins, a family of salivary histidine-rich proteins, are encoded by at least two loci (HIS1 and HIS2). *Biochemical and biophysical research communications*, 160(2), 495–502. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(89\)92460-1](https://doi.org/10.1016/0006-291x(89)92460-1).
- Selsted, M. E., Brown, D. M., DeLange, R. J., Harwig, S. S., & Lehrer, R. I. (1985). Primary structures of six antimicrobial peptides of rabbit peritoneal neutrophils. *The Journal of biological chemistry*, 260(8), 4579–4584.
- Selsted, M. E., Novotny, M. J., Morris, W. L., Tang, Y. Q., Smith, W., & Cullor, J. S. (1992). Indolicidin, a novel bactericidal tridecapeptide amide from neutrophils. *The Journal of biological chemistry*, 267(7), 4292–4295.
- Shi, J., Ross, C. R., Leto, T. L., & Blecha, F. (1996). PR-39, a proline-rich antibacterial peptide that inhibits phagocyte NADPH oxidase activity by binding to Src homology 3 domains of p47 phox. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(12), 6014–6018. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.12.6014>.
- Siqueira, W. L., Lee, Y. H., Xiao, Y., Held, K., & Wong, W. (2012). Identification and characterization of histatin 1 salivary

- complexes by using mass spectrometry. *Proteomics*, 12(22), 3426–3435. <https://doi.org/10.1002/pmic.201100665>.
- Sperstad, S. V., Haug, T., Vasskog, T., & Stensvåg, K. (2009). Hyastatin, a glycine-rich multi-domain antimicrobial peptide isolated from the spider crab (*Hyas araneus*) hemocytes. *Molecular immunology*, 46(13), 2604–2612. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2009.05.002>.
- Steckbeck, J. D., Deslouches, B., & Montelaro, R. C. (2014). Antimicrobial peptides: new drugs for bad bugs?. *Expert opinion on biological therapy*, 14(1), 11–14. <https://doi.org/10.1517/14712598.2013.844227>.
- Storici, P., & Zanetti, M. (1993). A novel cDNA sequence encoding a pig leukocyte antimicrobial peptide with a cathelin-like pro-sequence. *Biochemical and biophysical research communications*, 196(3), 1363–1368. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1993.2403>.
- Sun, D., Forsman, J., Lund, M., & Woodward, C. E. (2014). Effect of arginine-rich cell penetrating peptides on membrane pore formation and life-times: a molecular simulation study. *Physical chemistry chemical physics : PCCP*, 16(38), 20785–20795. <https://doi.org/10.1039/c4cp02211d>.
- Takahashi, D., Shukla, S. K., Prakash, O., & Zhang, G. (2010). Structural determinants of host defense peptides for antimicrobial activity and target cell selectivity. *Biochimie*, 92(9), 1236–1241. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2010.02.023>.
- Thapa, R. K., Diep, D. B., & Tønnesen, H. H. (2020). Topical antimicrobial peptide formulations for wound healing: Current developments and future prospects. *Acta biomaterialia*, 103, 52–67. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.12.025>.
- Tincu JA, Taylor SW. Antimicrobial peptides from marine invertebrates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 Oct;48(10):3645-54. doi: 10.1128/AAC.48.10.3645-3654.2004. PMID: 15388415; PMCID: PMC521913.
- Tonk M, Vilcinskas A, Rahnamaeian M. Insect antimicrobial peptides: potential tools for the prevention of skin cancer. *Appl Microbiol*

- Biotechnol. 2016 Sep;100(17):7397-405. doi: 10.1007/s00253-016-7718-y. Epub 2016 Jul 15. PMID: 27418360; PMCID: PMC4980408.
- Tossi, A., & Sandri, L. (2002). Molecular diversity in gene-encoded, cationic antimicrobial polypeptides. *Current pharmaceutical design*, 8(9), 743–761.
- Tossi, A., Sandri, L., & Giangaspero, A. (2000). Amphipathic, alpha-helical antimicrobial peptides. *Biopolymers*, 55(1), 4–30. [https://doi.org/10.1002/1097-0282\(2000\)55:1<4::AID-BIP30>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/1097-0282(2000)55:1<4::AID-BIP30>3.0.CO;2-M).
- Troxler, R. F., Offner, G. D., Xu, T., Vanderspek, J. C., & Oppenheim, F. G. (1990). Structural relationship between human salivary histatins. *Journal of dental research*, 69(1), 2–6. <https://doi.org/10.1177/00220345900690010101>.
- Tsai, H., & Bobek, L. A. (1998). Human salivary histatins: promising anti-fungal therapeutic agents. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists*, 9(4), 480–497. <https://doi.org/10.1177/10454411980090040601>.
- van 't Hof, W., Veerman, E. C., Helmerhorst, E. J., & Amerongen, A. V. (2001). Antimicrobial peptides: properties and applicability. *Biological chemistry*, 382(4), 597–619. <https://doi.org/10.1515/BC.2001.072>.
- Vandenburg, Y. R., Smith, B. D., Biron, E., & Voyer, N. (2002). Membrane disruption ability of facially amphiphilic helical peptides. *Chemical communications (Cambridge, England)*, (16), 1694–1695. <https://doi.org/10.1039/b204640g>.
- vanderSpek JC, Wyandt HE, Skare JC, Milunsky A, Oppenheim FG, Troxler RF. Localization of the genes for histatins to human chromosome 4q13 and tissue distribution of the mRNAs. *Am J Hum Genet*. 1989 Sep;45(3):381-7. PMID: 2773933; PMCID: PMC1683406.
- vanderSpek, J. C., Offner, G. D., Troxler, R. F., & Oppenheim, F. G. (1990). Molecular cloning of human submandibular histatins.

- Archives of oral biology, 35(2), 137–143.
[https://doi.org/10.1016/0003-9969\(90\)90175-a](https://doi.org/10.1016/0003-9969(90)90175-a).
- Walrant, A., Correia, I., Jiao, C. Y., Lequin, O., Bent, E. H., Goasdoué, N., Lacombe, C., Chassaing, G., Sagan, S., & Alves, I. D. (2011). Different membrane behaviour and cellular uptake of three basic arginine-rich peptides. *Biochimica et biophysica acta*, 1808(1), 382–393.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2010.09.009>.
- Wang G. (2015). Improved methods for classification, prediction, and design of antimicrobial peptides. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1268, 43–66. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2285-7_3.
- Wang, G., Li, X., & Wang, Z. (2016). APD3: the antimicrobial peptide database as a tool for research and education. *Nucleic acids research*, 44(D1), D1087–D1093.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkv1278>.
- Wieprecht, T., Dathe, M., Beyermann, M., Krause, E., Maloy, W. L., MacDonald, D. L., & Bienert, M. (1997). Peptide hydrophobicity controls the activity and selectivity of magainin 2 amide in interaction with membranes. *Biochemistry*, 36(20), 6124–6132. <https://doi.org/10.1021/bi9619987>.
- Wieprecht, T., Dathe, M., Krause, E., Beyermann, M., Maloy, W. L., MacDonald, D. L., & Bienert, M. (1997). Modulation of membrane activity of amphipathic, antibacterial peptides by slight modifications of the hydrophobic moment. *FEBS letters*, 417(1), 135–140. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(97\)01266-0](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(97)01266-0).
- Wilmes, M., & Sahl, H. G. (2014). Defensin-based anti-infective strategies. *International journal of medical microbiology : IJMM*, 304(1), 93–99.
<https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.08.007>.
- Wilson, S. S., Wiens, M. E., & Smith, J. G. (2013). Antiviral mechanisms of human defensins. *Journal of molecular biology*, 425(24), 4965–4980.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2013.09.038>.

- Wu, J., Zhou, X., Chen, Q., Chen, Z., Zhang, J., Yang, L., Sun, Y., Wang, G., Dai, J., & Feng, T. (2022). Defensins as a promising class of tick antimicrobial peptides: a scoping review. *Infectious diseases of poverty*, 11(1), 71. <https://doi.org/10.1186/s40249-022-00996-8>.
- Wu, J., Zhou, X., Chen, Q., Chen, Z., Zhang, J., Yang, L., Sun, Y., Wang, G., Dai, J., & Feng, T. (2022). Defensins as a promising class of tick antimicrobial peptides: a scoping review. *Infectious diseases of poverty*, 11(1), 71. <https://doi.org/10.1186/s40249-022-00996-8>.
- Xiong, M., Lee, M. W., Mansbach, R. A., Song, Z., Bao, Y., Peek, R. M., Jr, Yao, C., Chen, L. F., Ferguson, A. L., Wong, G. C., & Cheng, J. (2015). Helical antimicrobial polypeptides with radial amphiphilicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(43), 13155–13160. <https://doi.org/10.1073/pnas.1507893112>.
- Yasin, B., Pang, M., Turner, J. S., Cho, Y., Dinh, N. N., Waring, A. J., Lehrer, R. I., & Wagar, E. A. (2000). Evaluation of the inactivation of infectious Herpes simplex virus by host-defense peptides. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 19(3), 187–194. <https://doi.org/10.1007/s100960050457>.
- Yeaman, M. R., & Yount, N. Y. (2003). Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacological reviews*, 55(1), 27–55. <https://doi.org/10.1124/pr.55.1.2>.
- Yount, N. Y., Bayer, A. S., Xiong, Y. Q., & Yeaman, M. R. (2006). Advances in antimicrobial peptide immunobiology. *Biopolymers*, 84(5), 435–458. <https://doi.org/10.1002/bip.20543>.
- Zasloff M. (2002). Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature*, 415(6870), 389–395. <https://doi.org/10.1038/415389a>.
- Zhang, G., & Sunkara, L. T. (2014). Avian antimicrobial host defense peptides: from biology to therapeutic

applications. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 7(3), 220–247. <https://doi.org/10.3390/ph7030220>.

Zhao, C., Ganz, T., & Lehrer, R. I. (1995). Structures of genes for two cathelin-associated antimicrobial peptides: prophenin-2 and PR-39. *FEBS letters*, 376(3), 130–134. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(95\)01237-3](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)01237-3).

BÖLÜM 10

APOPTOZ VE MEKANİZMALARI

Vet. Hek. Serdar VANLI¹

Öğr. Gör. Dr. Gökhan AKÇAKAVAK²

Prof. Dr. Firuze KURTOĞLU³

¹ Ilgın İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü Konya/TÜRKİYE dr-serdar42@hotmail.com **Orcid ID: 0000-0001-5811-9571**

²Bozok Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji AD, Yozgat, Türkiye, gokhan.akcakavak@bozok.edu.tr , Orcid ID: 0000-0001-5949-4752

³ Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya AD, Konya, Türkiye, kurtoglu@selcuk.edu.tr, Orcid ID: 0000-0001-8034-8266

GİRİŞ

Apoptoz Yunanca'da "apo"; uzak, "ptozis"; düşmek anlamına gelir. Günümüzde apoptoz ifadesini ilk kez 1972 yılında Kerr ve arkadaşları kullanmıştır. Kerr yaptığı çalışmada hücrelerin çekirdeklerinde yoğunlaşmış bir şekilde kromatin parçalarını gözlemlemiştir. Ayrıca hücre organellerinin iyi korunduğunu fark etmiş bu olayı "büzüşme nekrozu" olarak isimlendirmiştir (Kerr, Wyllie, & Currie, 1972). Daha sonraki yıllarda apoptoz üzerine yapılan çalışmalarda; apoptozun, nekrozdan farklı olduğu görülmüştür. Apoptoz ile fizyolojik işlevini tamamlamış ve/veya DNA'sı hasar almış hücrelerin programlı bir şekilde ortadan kaldırıldığı tespit edilmiştir (Huppertz, Frank, & Kaufmann, 1999).

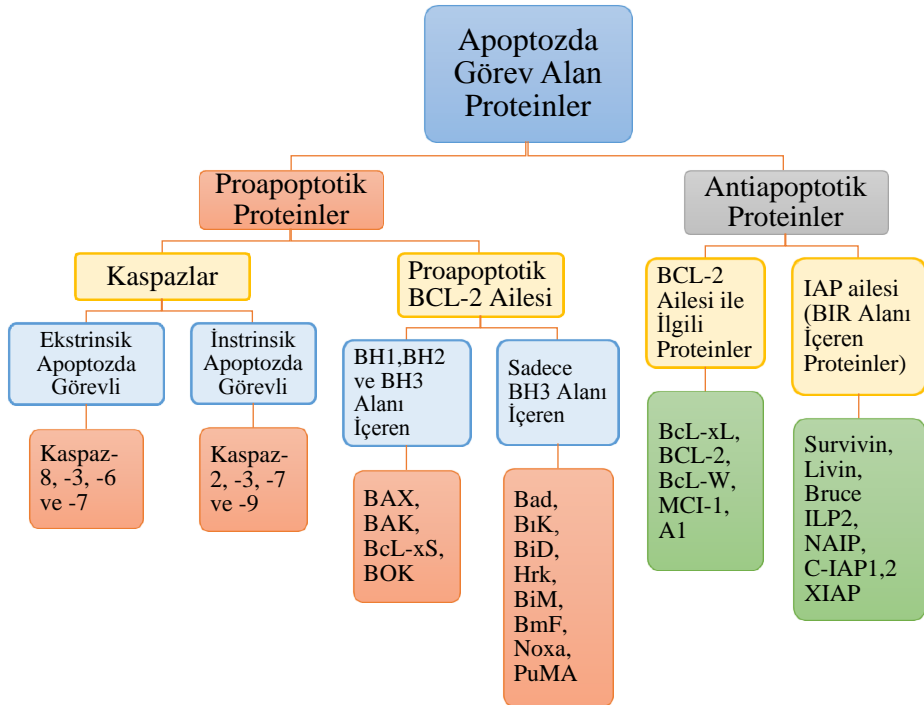
Yüksek yapılı canlılarda hücre ölümü nekroz ve apoptoz ile meydana gelmektedir. Klasik hücre ölümü nekrozda; hipoksi, travmalar ve toksinler gibi çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenler sonucunda gelişir. Apoptoz ise genetik mekanizmaların kontrolünde, patolojik ve fizyolojik etkenlerin rol oynadığı programlı hücre ölümüdür (Öztürk F. 2002). Apoptoza giden hücrelerde biyokimyasal ve morfolojik olarak farklı değişiklikler meydana gelmektedir (Norbury & Hickson, 2001). Apoptoz mekanizmasında reseptörler, apoptoza özgü kaspazlar ve BCL-2 ailesi proteinleri gibi moleküller rol almaktadır. Genellikle spesifik reseptör-ligand etkileşimi sonucu ya da intrinsik mekanizmaların harekete geçmesiyle; DNA yıkımlanması, hücre iskeletinin yıkımlanması ve hücre parçalanması şeklinde gerçekleşir (Chen, Kang, & Fu, 2018). Apoptoz esnasında, kromozomal DNA, nükleozomlar arasından kesilerek parçalanır. Kromatin yoğunlaşır ve daha sonra nükleus küçük parçalar halinde parçalanır. Son olarak, hücre büzülür ve apoptotik cisimler olarak isimlendirilen, membran ile kaplı, içinde hücre DNA'sı parçaları ve organelleri bulunan parçacıklara ayrılır (Bari, Petrik, & Rumora, 2003).

Radyo aktif ışınlar, sitokinler, oksidatif stres, büyüme faktörlerinin ortadan kalkması, toksinler, kemoterapötik ilaçlar ve viral enfeksiyonlar apoptozu tetikleyen başlıca etmenlerdir. Apoptoz, normal doku gelişiminin sağlanması, kan hücrelerinin yenilenmesi, barsak epitel hücrelerinin yenilenmesi, gelişme ve yaşlanma gibi normal fizyolojik süreçlerde görülmektedir. Patolojik olarak apoptoz; nörodejeneratif hastalıklar, AIDS, otoimmün hastalıklar, viral enfeksiyonlar ve kanser gibi patolojik durumlarda da ortaya çıkmaktadır (Thompson, 1995).

1. APOPTOZ MEKANİZMASINDA ROL ALAN PROTEİNLER

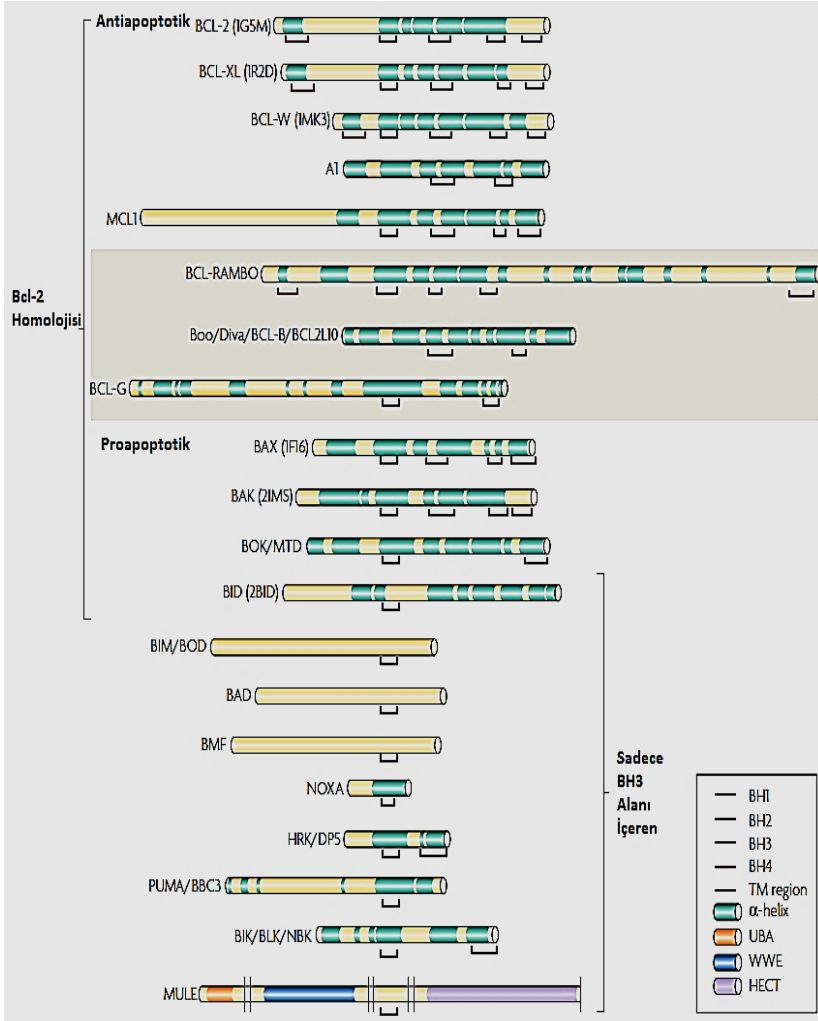
Apoptoz mekanizması birçok aracı proteinin katıldığı kompleks mekanizmalarla kontrol edilir (Tablo 1). Apoptoz mekanizmasında rol alan proteinlerin başında BcL-2 ailesi gelir. Antiapoptotik ve proapoptotik proteinler olarak ikiye ayrılan Bcl- 2 ailesi intrinsik apoptoz mekanizmasının düzenlenmesi ve sürdürülmesinde önemli rollere sahiptir. Proapoptotik BcL-2 proteinleri apoptozun başlatılmasında, antiapoptotik BcL-2 proteinleri ise apoptozun inhibe edilmesi ve hücrenin hayatta kalmasında rol alır (Solano-Gálvez et al., 2018). Apoptoz mekanizmasında hücrede DNA parçalanması ve hücrenin ölüme götürülmesi noktasında rol alan enzim ailesi ise kaspazlardır. Kaspazlar bu özellikleri nedeniyle intinsik ve ekstrinsik apoptoz mekanizmasında kritik noktada yer alırlar. Apoptoz mekanizmasının negatif düzenlenmesi IAP (Inhibitor of Apoptosis) ailesi tarafından gerçekleştirilir. IAP ailesi aktif kaspaz inhibisyonu sağlayarak apoptozu inhibe etmektedirler (Oberoi-Khanuja, Murali, & Rajalingam, 2013).

Tablo 1: Apoptozda Görev Alan Proteinler.



BCL-2 Ailesi

Apoptozu başlatan sinyaller mitokondride keşişmektedir. Bu nedenle apoptozda mitokondri aktivasyonu, geri dönüşü olmayan noktadır. Mitokondrinin aktivasyonuna tetikleyen en önemli neden ise; insan B hücreli foliküler lenfomasında ilk olarak tanımlanmış Bcl-2 ailesi proteinleridir (Tsujiimoto, Cossman, Jaffe, & Croce, 1985). Bcl-2 ailesi birbirine zıt olarak çalışan iki alt gruptan oluşur. İlk grup apoptozu inhibe (antiapoptotik) eden grup olarak adlandırılır. Antiapoptotik grupta: Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-W ve A1 yer alır. İkinci grup ise apoptozu indükleyen (proapoptotik) gruptur. Proapoptotik grup iki alt gruba ayrılır. Birinci grupta BH-1, BH-2 ve BH-3 homoloji alanı içeren Bax, Bak, Bok ve Bcl-xS bulunmaktadır. İkinci grupta ise sadece-BH3 alanı içeren; Bad, Bik, Bid, Hrk, Bim, Bmf, Noxa ve Puma bulunmaktadır (Willis et al.2007) (Şekil 1).



Şekil 1: Bcl-2 Ailesi ve İçerdikleri “BH” Alanına göre Sınıflandırılması. Üstteki beş protein (Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-W, Mcl1 ve A1) antiapoptotik olarak kabul edilmektedir. Ortada, gölgeli bölgedeki üç protein (BIM, BAD ve BMF) henüz tam olarak sınıflandırılmamıştır. Altta 12 protein proapoptotik olarak kabul edilmektedir. Kahverengi etiketli bölüm BH1’i, gri etiketli bölüm BH2’yi, mavi etiketli bölüm BH3’ü ve turuncu etiketli bölüm BH4’ü içeren bölgeleri göstermektedir. Kırmızı ile ayrılmış bölümler transmembran (TM) bölgeyi göstermektedir. MULE; ubiquitin ile ilişkili bir alan (UBA), Trp-Trp-Glu etkileşim modülü (WWE) ve bir HECT ubiquitin ligaz alanı içerir (R. J. Youle & A. Strasser, 2008)’den düzenlenmiştir.

Antiapoptotik grup özellikle hücrede kalsiyum oranını kontrol etmektedirler. AIF (Apoptozu İndükleyen Faktör) ve Sitokrom-C salınımını inhibe ederler. Proapoptotik grup ise hücreyi apoptoza götürücü bir etkiye sahiptir. Büyüme faktörü eksikliği gibi mitojenik uyarımların kesilmesi, radyasyon, serbest radikallerin etkisi ve hücre içi kalsiyum düzeyinin artışı gibi negatif uyarımlar sonucu proapoptotik proteinler devreye girer. Hücrede BcL-2/BAX ifadesi oranı BAX lehine değişerek apoptoz indüklenir. BcL-2, mitokondrinin iç ve dış zarında yer alır. Ayrıca endoplazmik retikulum, çekirdek zarı ve sitoplazmada da bulunabilir. Mitokondri dış zarında bulunan BcL-2, iyon geçişinin düzenlenmesinden ve Sitokrom-C salınmasının inhibe edilmesinden sorumludur (Schulze-Osthoff, Ferrari, Los, Wesselborg, & Peter, 1998). BcL-xL mitokondri dış zarına yerleşmiştir. BcL-xL, BcL-2 ile birlikte mitokondri membran geçirgenliğinin düzenlenmesinde görev alır. BcL-xL; Sitokrom-C, AIF, Bad ve Bax gibi proapoptotik proteinleri inhibe ederek apoptozu engeller. Ayrıca APAF-1 (Apoptotik Proteaz Aktive Edici Faktör)'i inhibe ederek kaspaz aktivasyonunu engeller (Susan Elmore, 2007).

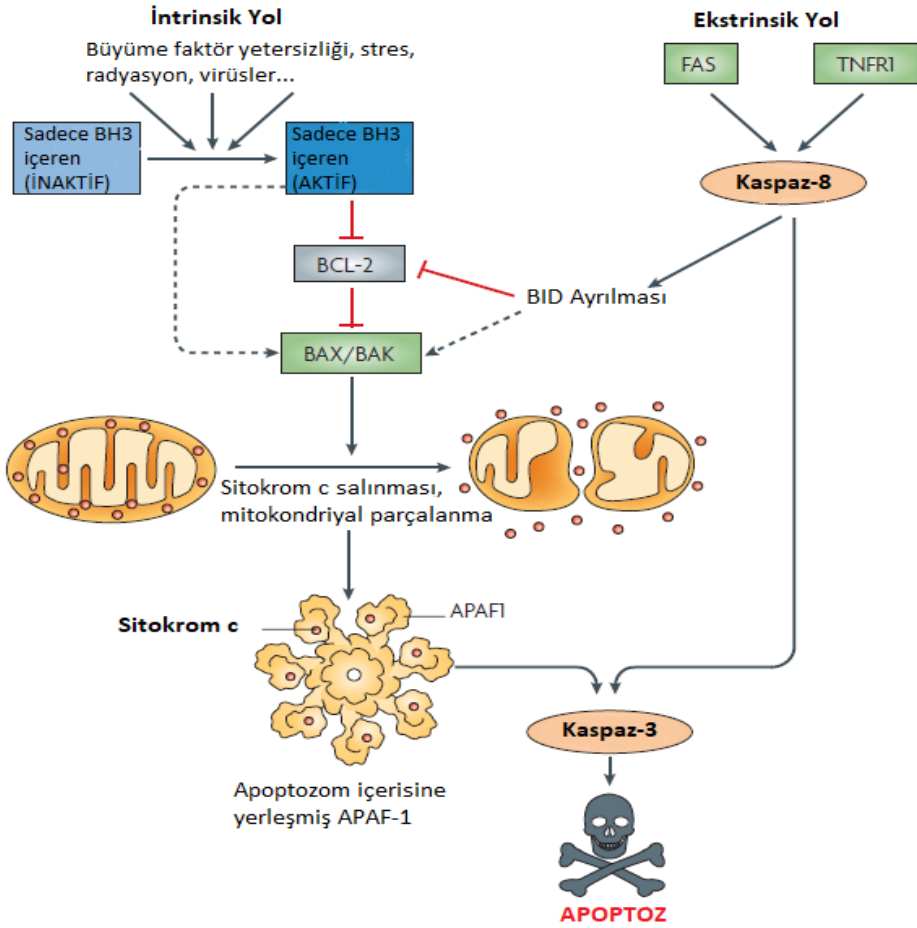
1.1. BcL-2 Proteinlerinin Aktivasyonu

Proapoptotik özellikte olan sadece-BH3 alanı içeren proteinler apoptotik sinyallere bağlı olarak aktif hale getirilir. Noxa ve PuMA, DNA hasarı sonucunda p53 proteini tarafından aktif hale getirilir. İyonize radyasyon ve UV hasarına bağlı olarak p53 aracılı apoptoz mekanizması devreye girer. PuMA, γ -radyasyonunun hasarına bağlı apoptoz görev alır. Noxa ise aynı hücre tipi içinde UV-radyasyona bağlı apoptozda görev alır (Naik, Michalak, Villunger, Adams, & Strasser, 2007). BiM; büyüme faktörlerinin yokluğuna bağlı olarak FOXO3A ve transkripsiyon faktörleri tarafından indüklenir (Dijkers, Medema, Lammers, Koenderman, & Coffey, 2000) (Şekil 2). Sadece BH3 alanı içeren proteinler post-translasyonel olarak da aktive edilebilir. BAD, büyüme faktörü yoksunluğuna yanıt olarak fosforilasyon kaybıyla aktive olurken (Zha, Harada, Yang, Jockel, & Korsmeyer, 1996), BiD; kaspaz-8'in rol aldığı proteoliz ile aktif hale geçer (Luo, Budihardjo, Zou, Slaughter, & Wang, 1998). BiM ise vezikül ve organel hareketinde görevli dynein motor kompleksinin serbest bırakılmasıyla ve/veya ERK (Ekstraselüler sinyal ile düzenlenen kinaz) aracılı fosforilasyon kaybıyla aktif hale geçer (Richard J Youle & Andreas Strasser, 2008). BiK protein sentezinin inhibisyonuna yanıt olarak bilinmeyen bir mekanizma tarafından etkinleştirilmektedir (Shimazu et al., 2007). Bmf ise; bir hücrenin ekstraselüler matriksle bağlantısının kesilmesiyle çevre hücreler tarafından

tarafından post-translasyonel olarak düzenlenir (Richard J Youle & Andreas Strasser, 2008).

1.2. Proapoptotik Proteinler

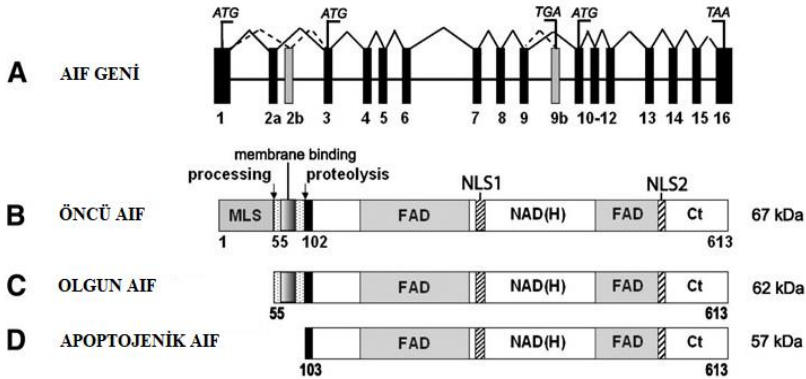
Proapoptotik proteinler Sitokrom-C ve AIF'in mitokondriden serbest bırakılmasını artırarak apoptozu tetikler. Proapoptotik proteinleri Bad, Bax, BiD, Bcl-xS, Bak, BiM, PuMA ve Noxa oluşturmaktadır. Proapoptotik aile üyelerinden Bax ve Bak mitokondrial membran geçirgenliğinin permeabilizasyonu sağlar. Ayrıca kaspaz aktivasyonuna neden olan apoptozu uyarıcı moleküllerin (Sitokrom-C ve Smac/DiABLO) salınımı uyarırlar (Newmeyer & Ferguson-Miller, 2003). Bax, normal hücrelerde sitozolde bulunur. Apoptozun uyarılması ile sitozolik Bax mitokondriye yönelir. Kalsiyum bağımlı proteolitik bir enzim olan kalpain tarafından salınımı uyarılarak Sitokrom-C salınımına neden olur. Yalnızca BH3 içeren proteinlerin, antiapoptotik aile üyelerinin doğrudan bağlanması ve inhibisyonu ile Bax ve Bak'ı baskıladığını göstermektedir (Willis et al., 2007). Buna karşılık, Bax ve Bak'ın sadece BH3 içeren proteinler tarafından (özellikle BiM, tBiD ve PuMA) doğrudan aktivasyonu gerçekleştirilebilir. Diğer üye BiD, Bcl-2'yi inhibe etmek veya Bax'ı aktif hale getirmek için mitokondriye yönelir (Kluck et al., 1999)(Şekil 3).



Şekil 3: Apoptozun ekstrinsik ve İntrinsik Mekanizmalarca Aktifleştirilmesi (R. J. Youle & A. Strasser, 2008)'den düzenlenmiştir.

Proapoptotik ajan olarak mitokondriden salınan AIF ve endonükleaz G apoptozda önemli rol alırlar. AIF (Apoptozis indükleyici faktör), mitokondriyal intermembran alanında bulunan ve bir flavin adenin dinükleotit içeren, NADH bağımlı oksidoredüktazdır. Nükleer genin transkripsiyonu ve translasyonundan sonra öncül AIF molekülü üretilir (Miramar et al., 2001)(Şekil 4). AIF molekülü apoptojenik hale kendi üzerine katlanması sonucu dönüşmektedir. Olgun AIF mitokondriyal iç membrana bağlı durumdadır. Apoptotik sinyaller alındığında çeşitli faktörler tarafından sitoplazmaya salınır (Susin et al., 1999). Dış membran geçirgenleştirici bir protein olan kesilmiş tBİD (truncated BİD), kalsiyum bağımlı bir proteaz olan aktif kalpain varlığında mitokondriden AIF salınımını indükler. Ayrıca kaspaz aktivasyonu da gerektirmektedir. Hücrel Ca^{+2} 'de bir artış ve bir protein-

disülfid izomeraz ERp57 ile gerçekleşen etkileşim, mitokondriyal kalpainin aktivasyonuna ve AIF'in proteolizisine yol açar (Ozaki, Yamashita, & Ishiguro, 2009). Apoptotik AIF çekirdekte kromatin yoğunlaşması ve DNA fragmentasyonunu sağlayarak apoptozdaki görevini yerine getirir (Sevrioukova, 2011).



Şekil 4: AIF Geni ve AIF'in Yapısı. Nükleer genin transkripsiyonu ve translasyonundan sonra; N-terminal mitokondriyal ana diziyi (MLS (mitochondrial leading sequence)), iki nükleer ana diziyi (NLS1,2), NAD ve FAD bağlayıcı motifleri içeren öncü AIF molekülü üretilir (Sevrioukova, 2011)'dan düzenlenmiştir.

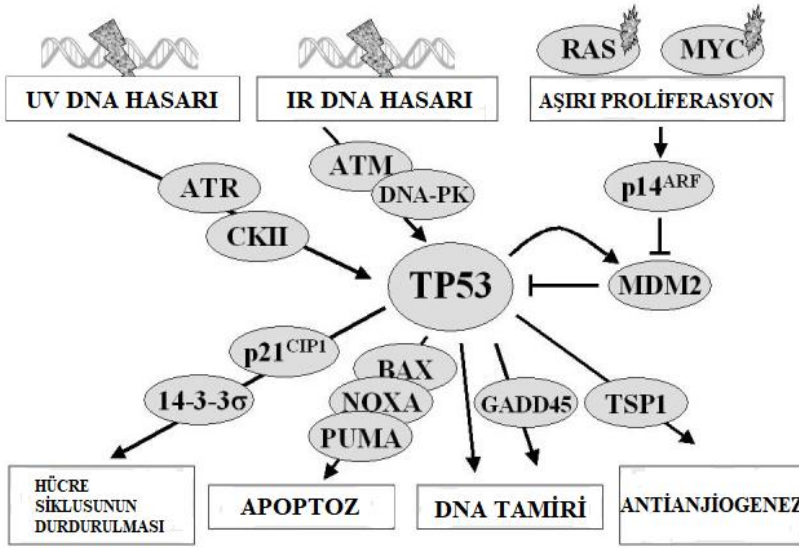
Endonükleaz G (EndoG) ise, mitokondri spesifik nükleazdır. EndoG, aktif olmayan bir öncü olarak sentezlenir. Olgun EndoG enzimi, sinyal peptidinin parçalanması sonucunda üretilir ve mitokondriyal intermembran boşluğa yerleşerek aktif bir homodimer oluşturur. Apoptoz esnasında nükleusa yerleşerek kaspazlardan bağımsız bir şekilde, DNA'yı parçalara ayırır (Jang et al., 2015).

1.3. Apoptoz Mekanizmasında p53 Proteinini

p53 proteinini; DNA tamiri, hücre bölünmesinin kontrolü, genomik kararlılık, gen transkripsiyonlarının düzenlenmesi ve apoptoz gibi birçok önemli hücrel olayda rol almaktadır. İlk olarak p53, 1979 yılında tümör gelişimine neden olan bir protein kabul ediliyordu (Lane & Crawford, 1979). 1989 yılına kadar kabul edilen bu durum; allel kayıpları, missense ve frameshift mutasyonları, intragenik delesyonları ve epigenetik değişikliklere bağlı olarak p53 proteininde genetik değişiklikler meydana geldiği ve mutant p53'ün kansere neden olduğunun bulunmasıyla noktalanmıştır (Varley, Evans, & Birch, 1997; Velculescu & El-Deiry, 1996).

P53 proteini işlevsel olarak 3 bölgeye ayrılmaktadır. Proteinin N-terminal ucu, transaktivatör bölge olarak isimlendirilmektedir. Bu bölge ile p53 proteini DNA'ya bağlandıktan sonra transkripsiyonun başlatılmasında rol almaktadır (Prives & Manfredi, 1993). Normal hücrelerde p53 proteininin N-terminal bölgesine pMDM2 (Murine Double Minutes-2) bağlı olarak bulunur. pMDM2 proteini p53'ü bağlayarak, p53'ün; hücre siklusunun G₁'den S evresine geçişe engel olmasını inhibe ederek ya da hücrenin apoptozuna engel olur (Kopnin, 2000). DNA hasarı, radyasyon ve/veya kimyasal ajanlar gibi nedenlerle aktifleşen ATM ve ATR gibi DNA hasar algılayıcı proteinler, p53-N-ucunda yer alan amino asitlerin fosforilasyonuna neden olur. Bu fosforilasyon ile; p53 inhibitör proteini MDM2'nin, p53'e bağlanması önlenerek p53 proteininin kararlılığı sağlanır. p53 kararlılığını ve DNA'ya bağlanma özelliğini etkileyen bir diğer molekül p14^{ARF} proteinidir. p14^{ARF}, MDM2'nin inhibitörü olarak görev yapar ve MDM2'nin, p53'ten ayrılmasına neden olur (Kaelin Jr, 1999) (Şekil 5). p53'ün C-ucu oligomerizasyon ve nükleer lokalizasyon bölgesidir. P53 proteini, C-ucu aracılığı ile diğer proteinler ile fiziksel etkileşime geçerek heterodimer yapılar oluşturur. DNA'da oluşan çift zincir kırıkları ve/veya telomer hasarı gibi durumlarda p53, homo-tetramer yapılar şeklinde direkt DNA'ya bağlanır ve DNA sarmalının çözülmesine engel olur (Tan & Luo, 2009). p53 proteinin N-terminal ve C-terminal ucu arasındaki bölge, DNA'ya bağlanma bölgesi olarak rol alır. p53'ün hem transkripsiyon faktörü olarak ve transkripsiyondan bağımsız mekanizmalar aracılığı ile DNA üzerindeki görevlerini yerine getirmede bu bölge oldukça önemlidir (Prives & Manfredi, 1993).

p53 proteini görevini hücresel süreçte görev alan ilgili genlerin transkripsiyonlarını düzenleyerek veya doğrudan DNA ile etkileşime girerek yerine getirmektedir. p53; hipoksi, serbest radikallerin etkisi gibi fiziksel ya da kimyasal etkiler sonucunda DNA'da oluşan hasara bağlı olarak, hücre bölünmesinde G₁'den S safhasına geçişi inhibe ederek tamir mekanizmalarını devreye sokar. Hasar onarılamayacak kadar büyükse p53 apoptozu uyararak hücre ölüme götürülür (Vieler & Sanyal, 2018). p53, hücre döngüsünün G₀/G₁ safhasında rol alan birçok CDKs (siklin bağımlı kinaz) işlevini; p21^{Cip1} geninin transkripsiyonunu uyararak engeller (Benedict et al., 2018; Simabuco et al., 2018). p53, DNA tamiri ve DNA sentez mekanizmasında rol alan PCNA, GADD45 proteinlerini ve apoptotik özellikte olan Bax ve Fas gibi proteinlerin transkripsiyonlarını da düzenlenmektedir (Harris, 1996). Ayrıca p53, replikasyonu; replikasyon çatalının oluşumunu engelleyerek transkripsiyondan bağımsız bir mekanizma ile baskılar (Harris, 1996).

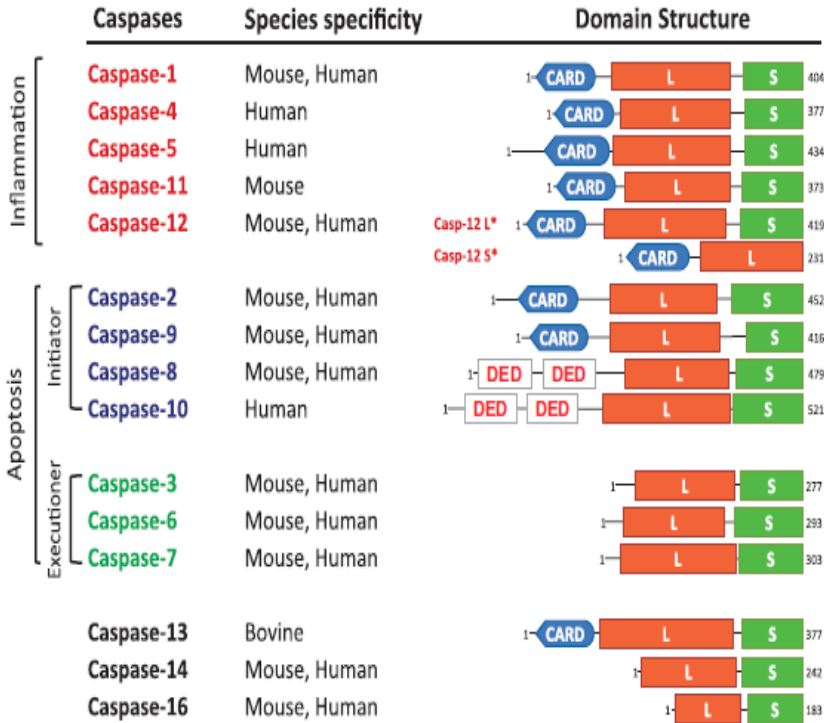


Şekil 5: TP53 ve Çeşitli Uyarılara Karşı Verilen Hücresel Tepki (Schulz, 2005)'den düzenlenmiştir.

1.4. Kaspazlar

Apoptozda rol oynayan Sistein Aspartat Spesifik Proteaz olarak tanımlanan kaspazlar, bir aspartat rezidüsüne bitişik peptid bağlarını ayıran sistein proteazlarıdır. Kaspazlar ilk sentezlendiklerinde inaktif zimojen formda bulunurlar. Kaspazların zimojen yapısı apoptozun aktive edilmesinden sonra kesilerek aktif kaspaz formuna dönüşür. Kaspazlar apoptozun şekillenmesinde görev alan 40'tan fazla proteazın aktifleşmesini sağlar. Kaspazlar; amino asit sekansı, yapı ve substrat özgünlüğü açısından benzerlikler taşırlar. Kaspazlar bir terminal NH₂ alanı, 20 kDa ağırlığında geniş alt birim (p20) ve 10 kDa ağırlığında küçük alt birim (p10) olmak üzere üç alan içeren proenzimler (30 ila 50 kDa) olarak ifade edilir (Thornberry, 1998).

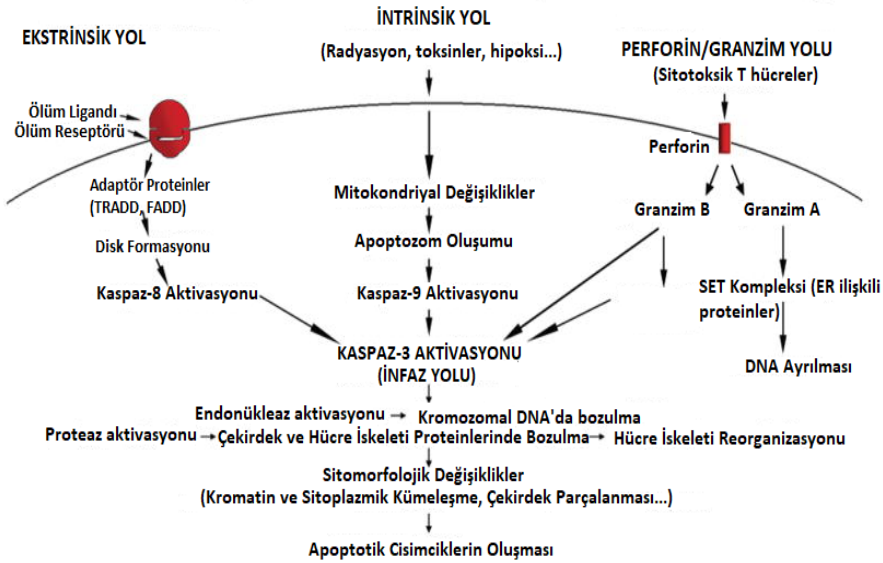
Kaspazlar ailesi; başlatıcı kaspazlar (kaspaz-2,8,9,10), infazcı kaspazlar (kaspaz-3,6,7) ve inflamatuvar kaspazlar (kaspaz-1,4,5,11,12) olarak sınıflandırılır (Shalini, Dorstyn, Dawar, & Kumar, 2015) (Şekil 6).



Şekil 6: Plasentalı Memeli Kaspazlarının Alan Yapısı ve Fonksiyonel Sınıflandırması. CARD (caspase recruitment domain) kaspaz toplama alanı, ölüm infazcı alanı; DED (death effector domain), L; büyük altbirim, S; küçük altbirim, S*; Kaspaz-12 kısa formu ve L*; Kaspaz-12 uzun formu (Shalini et al., 2015)’den düzenlenmiştir.

Çoğu kaspaz, zimojen p20 ve p10 alanlarından ve prodomain ile p20 alanından proteolitik bölünme ile aktive edilir. Bir prokaspazı aktif hale getirmenin en basit yolu onu daha önce aktif hale gelmiş başka bir kaspaz molekülüne maruz bırakmaktır. Bu ‘kaspaz kaskad’ sistemi infazcı kaspazlar 3,6 ve 7’nin aktivasyonunda yaygın olarak kullanılır (Hengartner, 2000). Apoptotik kaspazlar, N-terminal bölgesine doğru spesifik protein etkileşimi alanlarının varlığına veya yokluğuna göre başlatıcı kaspazlar ve infazcı kaspazlar olarak ikiye ayrılmışlardır (Shalini et al., 2015). Başlatıcı kaspazlar apoptotik uyarım sonucu ölüm sinyallerini infazcı kaspazlara iletir. Başlatıcı kaspazlar hücre ölüm yollarında uzun ve yapısal olarak benzer prodomainleri paylaşır. Bu kaspaz grubu adaptör proteinlerin prodomainlerle etkileşime girdiğinde ve kaspaz dimerizasyonu şekillendiğinde “uyarılmış yakınlık” ile aktive edilir (Parrish, Freel, & Kornbluth, 2013). Başlatıcı kaspazlar, ölüm alanlarını (DED) ya da kaspaz alım alanlarını (CARD) içerir. Kaspazların

aktivasyonlarını kolaylaştırmak için bu alanlar; dimerizasyona ve daha büyük komplekslere katılımlarına aracılık eder. Bu alanlar mitokondriyal yol ve ölüm reseptörü yolu ile apoptoz sırasında başlatıcı kaspaz aktivasyonuna aracılık eder (Shalini et al., 2015) (Şekil 7).



Şekil 7: Apoptotik Yolaklarda Kaspaz Aktivasyonu (S. Elmore, 2007)'den düzenlenmiştir.

Kaspaz aktivasyonları içerisinde en karmaşık olanı mitokondriyal apoptoz yoluna aracılık eden kaspaz-9 aktivasyonudur. Kaspaz-9 aktivasyonunun temel şartı, özel bir protein kofaktörü APAF-1 ile olan ilişkisidir (Parrish et al., 2013). Başlangıçta kaspaz-9 aktivasyonu için Apaf-1/Kaspaz-9 kompleksinin geçici olarak oluşması gerektiği düşünülmüştür. Fakat ilerleyen çalışmalarda APAF-1/Kaspaz-9 kompleksinin kaspaz-9'un aktif formunu temsil ettiği ortaya çıkmıştır. Apaf-1'i sadece kaspaz-9 aktivatörü olarak görmek yerine, kaspaz-9 holoenziminin temel bir düzenleyici birimi olarak görmenin daha doğru olacağı vurgulanmıştır. Genellikle apoptozom olarak adlandırılan bu holoenzim çok çeşitli proteinler ihtiva eden büyük bir yapıdır (Hengartner, 2000).

İnfazcı kaspazlar (kaspaz-3, -6 ve -7), başlatıcı kaspazların aksine daha kısa prodomainlere sahiptir. Hücrede önceden oluşturulmuş fakat aktif olmayan homodimerler olarak bulunur. Bir başlatıcı kaspazın aracılık ettiği

bölünmeyi takiben, infazcı kaspazları, hücreyi parçalamak için doğrudan belirli hücre substratları üzerinde etki eder (Parrish et al., 2013). İnfazcı kaspazlar hücresel yapışmayla ilgili kinazları, nükleer zarın iç yüzeyini oluşturan laminleri, hücre iskeleti elemanlarını ve PARP (poli-ADP-riboz polimeraz) enzimlerini yıkar. İnfazcı kaspazlar, hücreleri apoptozdan koruyan proteinleri inaktive eder. DNA fragmentasyonundan sorumlu olan CAD (kaspaz ile aktive olan DNAaz)'ın inhibitörü olan; ICAD'ın apoptozda birbirinden ayrılması gerekmektedir (Enari ve ark 1998). Apoptozun olmadığı hücrelerde CAD, ICAD ile aktif olmayan bir kompleks olarak bulunur. Apoptoz sırasında, ICAD kaspazlar tarafından etkisiz hale getirilir ve CAD'ın aktivasyonuna neden olarak hücresel DNA'nın yıkımını başlatır (Thornberry, 1998).

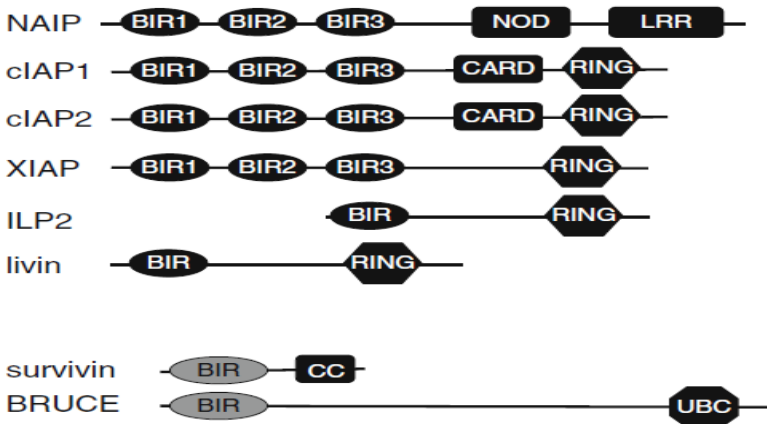
1.5. Apoptozu İnhibe Eden Proteinler (IAPs)

IAP; hücresel stres, ölüm reseptörlerinin aktivasyonu, iyonize radyasyon, genomda meydana gelen hasar ve enfeksiyon gibi durumlarda aktif olan, apoptozu inhibe eden gen ailesidir. Bu gen ailesinin üyeleri, hücresel stres durumlarına göre hücrenin hayatta kalması ya da ölmesine karar veren kritik öneme sahip proteinlerdir. Bir böcek virüsünden 1993-1994 yıllarında keşfedilen ilk iki IAP geni; BAKuloviral CpIAP (Cydia pomonella granulosus virusundan (CpGV)) ve OpIAP (Orgyia pseudosugata nükleer polihedroz virusundan (OpNPV))'dir. İlk keşfedilen hücresel IAP, memeli geni NAIP (Neuronal Apoptosis Inhibitory Protein)'dir. NAIP; Spinal Musküler Atrofi (SPA)'ye neden olan geni belirlemek amacıyla, 1995'te pozisyonel bir klonlama çalışması sırasında tanımlanmıştır (Roy et al., 1995). NAIP geninin bulunmasından sonra; X'e bağlı apoptoz inhibitörü (XIAP), hücresel IAP1/insan IAP2, hücresel IAP2/insan IAP1, IAP-benzeri protein 2/testis spesifik (Ts-IAP/hILP2), BIR- ubiquitin konjuge enzim içeren (BRUCE) gen, survivin ve livin olmak üzere yedi tane daha insan IAP geni bulunmuştur (Oberoi-Khanuja et al., 2013).

IAP'ların belirleyici ve spesifik yapısal özelliği BIR (baculovirus IAP repeat) alanıdır. IAP'ler, 70 veya 80 aminoasitlik, bir tane ya da art arda dizilmiş üç tane tipik BIR alan içerir. Her BIR alanı; tetrahedral olarak bir çinko atomunu şelatlar ve dört veya beş alfa heliksten ve farklı sayıda antiparalel b tipi katlanmış tabakadan oluşmuş küresel bir yapı oluşturur. BIR dizi homolojisine dayanarak memeli IAP iki tipe ayrılabilir; yaklaşık 70 aminoasitlik yapıya sahip olan tip 1- IAP (cIAP1, cIAP2, XIAP, Ts-IAP/hILP2 ve livin) ve uzunluğu yaklaşık 80 aminoasitlik BIR alanına sahip

olan tip 2- IAP (BRUCE ve survivin). Tip 2 IAP genlerinin her ikisi de hücre bölünmesinde kritik rol alır. BIR alanına ek olarak, IAP genleri farklı alanlar da içermektedir (Şekil 8). Bazı IAP ailesi üyeleri RING alanı (cIAP1, cIAP2, XIAP, Ts-IAP/hILP2 ve livin) içerir. Bu RING alanının, E3 ubiquitin ligaz aktivitesine sahip olduğu, kendiliğinden ubiquitinizasyon ve protein parçalanmasını düzenlediği belirtilmiştir (Oberoi-Khanuja et al., 2013).

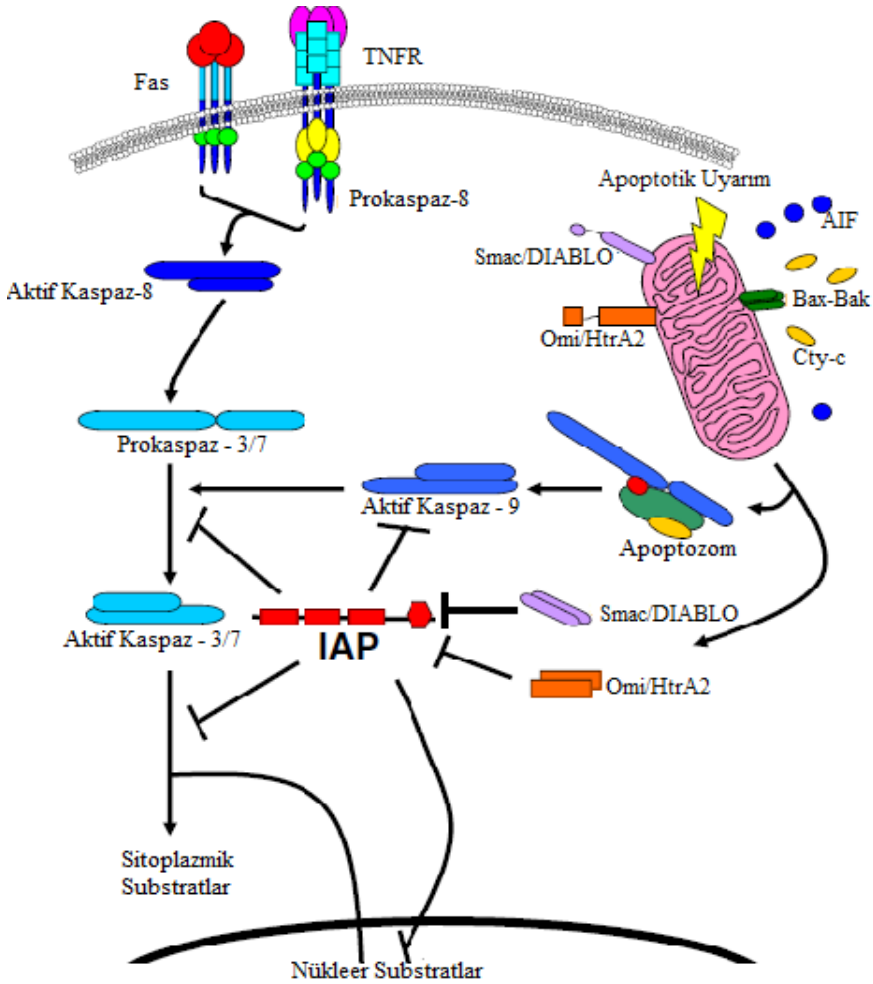
IAP ailesinde BIR ve RING alanı arasındaki bağlayıcı bölgede muhtemelen protein-protein etkileşimini sağlayan CARD (kaspaz alım bölgesi (caspase-recruitment domain)) alanına sahip IAP üyeleri (cIAP1 ve cIAP2) vardır (Şekil- 2.9). Özellikle, cIAP1’de bu alanın proliferasyonla ilişkili olduğu belirtilmektedir. Bir diğer IAP üyesi NAIP; NOD (nucleotide-binding oligomerization domain) benzeri reseptörler (NLR’ler) olarak adlandırılan, doğal bağışıklıkta yer alan, diğer proteinlerle birlikte sınıflandırılan, bir nükleotit bağlayıcı ve oligomerizasyon alanının (NOD) yanı sıra lösinden zengin tekrarlarla (LRRs) sahiptir. BRUCE, RING alanından yoksundur ve benzer bir görevi yerine getirebilen ubiquitin konjugasyon (UBC) alanı içerir. Survivin ise sarmal bobin benzeri (CC (coiled-coil)) bir alana sahiptir. Bu alan hücre bölünmesinde önemli bir yere sahiptir. Survivin’in CC alanı, metafaz aşamasının ortasında; kromozom hizalanması ve ayrılması için, mikrotübül stabilizasyonu ve iğ ipliği oluşumu için önemli bir role sahip; INCENP (inner centromer proteins (kromozomal taşıyıcı proteinlerini)) ve CDCA8/Borealin (Cell-Division Cycle Associated 8)’i bağlayan bölgedir (Yin & Dong, 2003).



Şekil 8: Apoptozu İnhibe Eden Genlerin Yapısal Özellikleri ve Sınıflandırılması (Yin & Dong, 2003)’den düzenlenmiştir.

Apoptoz mekanizmasının düzenlenmesi ve inhibe edilmesinde önemli iki kavram vardır. Birinci kavram; tüm kaspazlar, zimojen olarak sentezlenir ve sıkı bir denetim altında olan sinyal mekanizmalarınca aktif hale getirilir. Kaspaz aktivasyonunu düzenleyen sinyal mekanizmaları da başka sinyal mekanizmaları tarafından kontrol edilir. Yani kaspaz aktivasyonunda iki basamaklı denetim mekanizması vardır. İkinci kavram; doğal olarak meydana gelen IAP'lar tarafından aktif kaspazların spesifik blokasyonu gerçekleştirilir. IAP'lar, tüm kaspazların aktivitesini düzenlediği bilinen tek hücrel proteinlerdir. XIAP, tüm inhibitör proteinler arasında en güçlü ve spesifik kaspaz-9,3,7 inhibitörüdür. cIAP1 ve cIAP2'nin fonksiyonel aktivitesine ilave olarak XIAP; kaspaz-3,6,7'nin upstream proteolitik aktivitesini, prokaspaz-9'un mitokondriyal apoptozun Sitokrom-C ile aktivasyonunu engellediği yapılan in vitro çalışmalarla gösterilmiştir (Deveraux et al., 1998; Deveraux, Takahashi, Salvesen, & Reed, 1997).

Bütün sağlıklı memeli hücrelerinde; IAP proteinlerinin negatif düzenlenmesi, mitokondriden salınan inhibitör proteinler tarafından gerçekleştirilir. En önemli fonksiyona sahip IAP inhibitörleri; Smac/DiABLO ve HtrA2/Omi'dir. Smac/DiABLO; apoptoz esnasında sitoplazmaya salınan mitokondriyal bir proteindir. IAP kaynaklı kaspaz inhibisyonunun antagonisti olarak çalışan ve apoptozu destekleyen bir protein olarak görev alır. Smac/DiABLO ilk olarak 239 aminoasitlik öncü molekül olarak sentezlenir. Başlangıçta, Smac/DiABLO'nun mitokondriyal hedeflemesi N-terminalinde bulunan 55 aminoasitlik diziyi içerir. Bu dizi; apoptotik sinyal gelinceye kadar, AVPI (Ala-Val-Pro-Ile) içeren N-terminal polipeptitleri oluşturmak amacıyla mitokondriyal proteolitik parçalanmaya uğrar. Aktif hale gelen Smac/DiABLO, Sitokrom-C ile birlikte mitokondriden BAX-BAK kanalları aracılığı ile sitozole salınır. Apaf-1 ve kaspaz-9 direkt Sitokrom-C tarafından aktive edilirken; Smac/DiABLO, çeşitli IAP'ler ile etkileşime girer. Smac/DiABLO hem başlatıcı hem de infazcı kaspazların apoptozu inhibe edici etkisini bloke ederek, apoptozun sürdürülmesini sağlar (Hunter, LaCasse, & Korneluk, 2007) (Şekil 9).



Şekil 9: İntrinsik ve Ekstrinsik Apoptozda, IAP Antagonisti Molekülleri; Smac/DiABLO ve Omi/Htr-A2 ‘nin Etki Mekanizması. Aktif Smac/DiABLO ve Sitokrom-C apoptotik uyarımlar sonucunda mitokondriden sitozole salınır. Smac/DiABLO; IAP’ların inhibitör etkisini bloke ederek apoptozun sürdürülmesini sağlar. Benzer şekilde Omi/Htr-A2 molekülü de IAP’ların etkisini bloke ederek apoptozun sürdürülmesini sağlar. Kaspaz-9 Sitokrom- C tarafından indüklenerek infazcı kaspazları aktifleştirir (Hunter et al., 2007)’den düzenlenmiştir.

Smac/DiABLO proteininin yapısında yer alan AVPI kalıntısının en önemli fonksiyonu Smac/DiABLO ve IAP/BIR3 etkileşiminin sağlamasıdır. AVPI kalıntısındaki Alanin, bağlayıcı BIR3 yüzeyini tanıyarak, Smac/DiABLO-IAP/BIR3 etkileşiminin kurulmasını sağlar. Diğer üç valin, prolin ve izolösin kalıntısı hidrofoBİK yapıda olup, BIR3 yüzeyini kaplayan hidrofoBİK kalıntılar ile etkileşim kurar. Ara yüzdeki önemli kalıntıların

mutasyonları dimer oluşumunu bozar ve Smac/DiABLO'nun procaspase-3'ü aktive etme ve aktif kaspaz-3'ün enzimatik aktivitesini artırma yeteneğini önemli ölçüde zayıfltır ya da bozar. AVPI kalıntısının delesyonu ya da bu kalıntıdaki aminoasitlerde özellikle alaninde meydana gelen missense mutasyona bağlı Smac/DiABLO'nun fonksiyon kaybı meydana gelir. Bu fonksiyon kaybına bağlı olarak Smac/DiABLO–IAP etkileşimi sona erer (Chai et al., 2000; Wu et al., 2000). Bir diğer önemli IAP inhibitörü Omi/HtrA2'dir. Omi/HtrA2; bir serin proteazı olup, kaspaz aktivatörü olarak tanımlanmıştır. Genellikle Smac/DiABLO ile benzer yapısal ve fonksiyonel özellik gösterir. N-terminal alanı mitokondriyal hedef alanıdır ve sitozole salınmadan önce proteolitik parçalanmaya uğrar. Omi/HtrA2; sitozolde, ubiquitin füzyon proteini olarak aşırı ekspre edildiği zaman mitokondriyal dış membran permeabilitesinde artışa neden olur. Permeabilite artışına bağlı olarak Sitokrom-C bağımlı kaspaz aktivasyonu şekillenir ve apoptoz indüklenir (Hunter et al., 2007). Smac/DiABLO ve Omi/HtrA2 haricinde IAP inhibitörü proteinler de tanımlanmıştır. Bunlardan birisi diğer IAP'lar ile ortak N-terminal IAP-bağlayıcı motif içeren, endoplazmik retikulum kaynaklı GSPT1/RF3 proteininin bir izoformudur. GSPT1/RF3; IAP'lar ile etkileşime girerek kaspazlar üzerindeki IAP inhibisyonunu bloke eder ve sonuçta kaspaz aktivasyonu sağlar. Ayrıca IAP'ları ubiquitimize ettiği ve apoptozu indüklediği gösterilmiştir (Hegde et al., 2003).

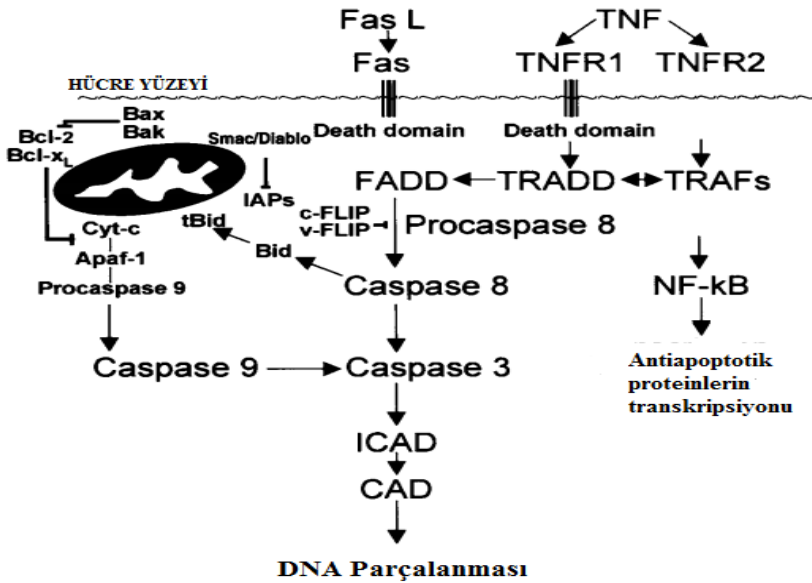
2. APOPTOZ MEKANİZMALARI

2.1. Ekstrinsik Yol İle Apoptoz

Ekstrinsik mekanizmada transmembran reseptör aracılı etkileşimler, dış sinyal yolları ile apoptozun başlamasında etkilidir. Bunlar, TNF reseptör gen süper ailesinin üyesi ölüm reseptörlerini içerir. TNF reseptör ailesinin üyeleri sisteinden zengin benzer hücre dışı alanları paylaşır. Bu aile üyeleri 80 amino asitlik sitoplazmik alan içeren ölüm alanı (DD) olarak adlandırılır. Ölüm alanı, apoptotik sinyallerin hücre membranından sitoplazmik sinyal yollarına iletilmesinde kritik bir görev üstlenir. FasL/FasR (CD95 yolu) yolu, FADD (Fas ilişkili ölüm alanı) ölüm alanı ve RIP (Reseptör etkileşim proteini) proteini ile etkileşim içerisindedir. TNF α /TNFR1 yolunun ölüm alanı ise TRADD (TNF reseptör ilişkili ölüm alanı) olarak adlandırılır (Susan Elmore, 2007).

En iyi tanımlanmış ölüm reseptörleri ve ligandları; FasL/FasR (CD95 yolu), TNF α /TNF-R1, Apo3L/DR-3, Apo2L/DR-4 ve Apo2L/DR-5'tir. Hücre

ekstrinsik apoptotik sinyaller ile uyarıldığında, hücre yüzeyinde ölüm reseptör-ligand etkileşimi sonucu reseptör üçlü bir yapı kazanır. Üçlü yapıya sahip reseptör; adaptör proteinler ve prokaspazlar ile bir araya gelerek DISC adı verilen ve apoptoza neden olan yapıyı oluşturur (Kischkel et al., 1995). DISC formasyonu şekillendikten sonra inaktif prokaspaz-8'in aktif kaspaz-8'e dönüştürülür. Aktif kaspaz-8; iki şekilde kaspaz-3'ü aktive eder. Birincisi, kaspaz-8 tarafından direkt olarak kaspaz-3'ün aktif hale getirilmesidir. İkincisi ise, Bid'in kesilmesi ile mitokondriyal yolda kaspaz-9'un aktivasyonundan sonra kaspaz-3'ün aktif hale getirilmesidir. Her iki yolla aktif kaspaz-3, CAD'ın aktifleştirilmesi ile DNA parçalanmasına neden olur. Ölüm reseptörü aracılı apoptoz, c-FLIP ile FADD ve kaspaz-8'in inhibe edilmesi ile durdurulmaktadır (Schulze-Osthoff et al., 1998) (Şekil 10).



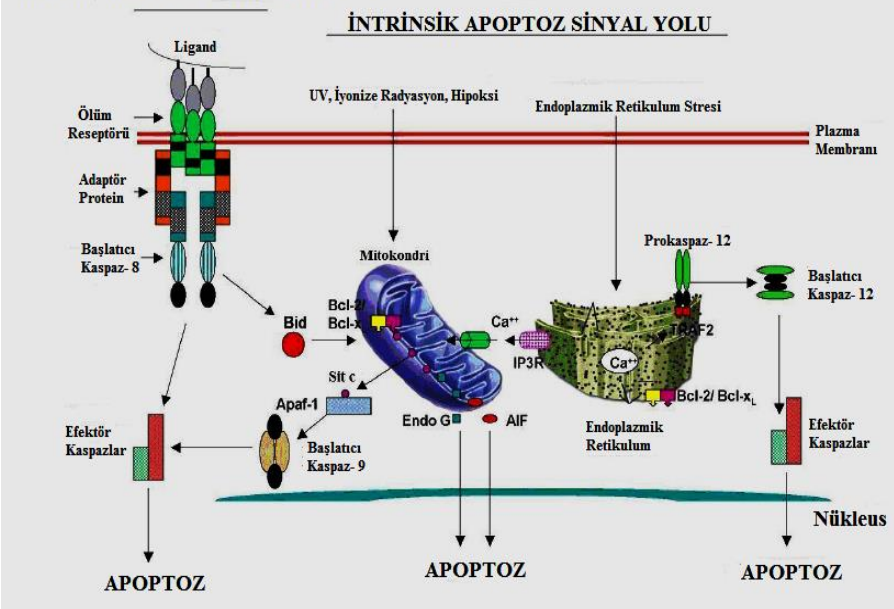
Şekil 10: Ölüm Sinyalleri, Hücrenin Genomunda Hasara Neden Olabilecek Etmenlere (UV, kimyasallar, oksidatif stres gibi) Bağlı Apoptotik Yolakların Aktive Edilmesi, Ekstrinsik Apoptoz ile İnstrinsik Apoptozun İlişkisi (Schultz & Harrington Jr, 2003)'den düzenlenmiştir.

2.2. İnrinsik Yol ile Apoptoz

Apoptozu uyaran ekstraselüler sinyaller ya da genom hasarı, intraselüler kalsiyum artışı, hücre siklus bozuklukları ve hipoksi gibi intraselüler sinyaller sonucu instrinsik yol uyarılır. Mitokondri üzerinden gerçekleşen bu yolda, hücre ölüm sinyalini alması sonucu aktifleşen BiD proteini ve kaspaz-8 mitokondri dış membranına yerleşir. Mitokondri dış membranında kaspaz-8; BiD molekülünü keserek aktif BİD (truncated BiD) şekline dönüştürür. tBiD, BcL-2'yi inaktive ederken, proapoptotik Bax ve Bak proteinlerini aktifleştirir. Aktif Bax/Bak mitokondri membranında por oluşumuna neden olarak mitokondri zar potansiyelini değiştirir. Böylelikle mitokondri membranındaki porlardan Sitokrom-C, Smac/DiABLO, Endo-G, kalsiyum ve AIF (apoptoz indükleyici faktör) salınımını uyarır (Lucken-Ardjomande & Martinou, 2005) (Şekil 11).

Smac, IAF'ı bloke ederek apoptozu hızlandırır. IAP'ler ise kaspaz-3 ve kaspaz-8 aktivasyonunu engeller. Apoptoz aktifleyici faktör çekirdeğe geçerek DNA'yı parçalara ayırır. Endo-G de DNA fragmentasyonuna neden olur. Sitolde, Sitokrom-C, Apaf-1 ve ATP'den oluşan ve apoptozom denen bir kompleks oluşturulur. Apoptozom kaspaz-9'un aktivasyonunda rol alır. Aktif hale gelen kaspaz-9 ise prokaspaz-3'ü keserek aktif kaspaz-3 haline dönüştürür. Daha sonra aktif kaspaz-3, ICAD (İnaktif kaspaz aktive edici DNaz)'ı inhibe ederek CAD (Kaspaz aktive edici DNaz)'ın serbest hale getirmesini sağlar. Çekirdekte ise aktif hale gelen CAD etkisiyle küçük alt birimler halinde DNA fragmentasyonu ve kromatin yoğunlaşması gerçekleşir (Schultz & Harrington Jr, 2003).

EKSTRİNSİK APOPTOZ SİNYAL YOLU



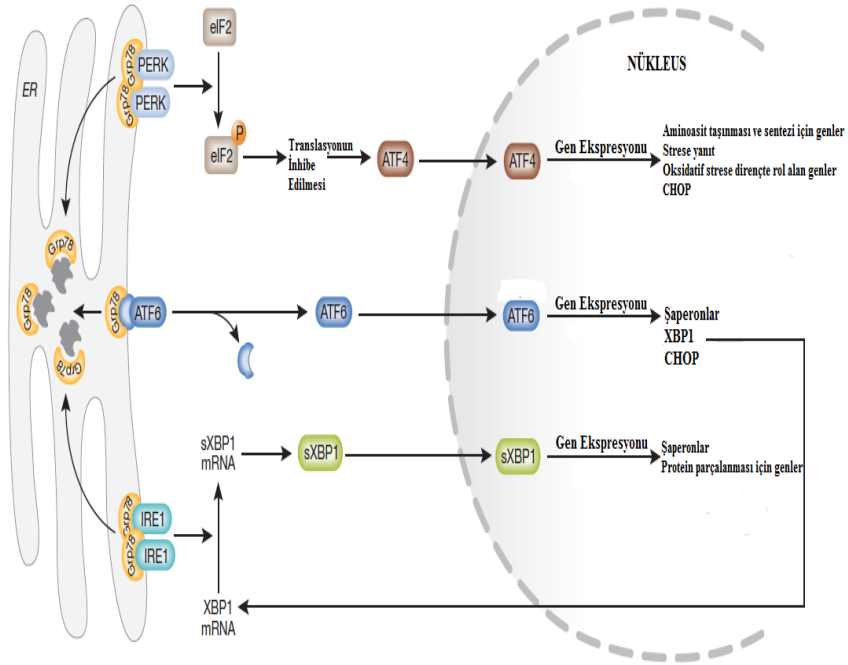
Şekil 11: Apoptotik Sinyal Yolakları (Gupta, Agrawal, Agrawal, Su, & Gollapudi, 2006)'den düzenlenmiştir.

2.3. Endoplazmik Retikulum Stresi ve Apoptoz

Endoplazmik retikulum (ER), ekstraselüler ortama gönderilecek proteinlerin katlanmasının gerçekleştiği ağ yapıda bir organeldir. Sitolün aksine, yüksek oranda Ca^{+2} içermektedir. Proteinlerin katlanma aşamalarının başarılı bir şekilde tamamlanması hücre metabolizması için çok önemlidir. Bunun için Bip/GRP78, GRP94 (glukozla düzenlenen protein 78 ve 94) ER şaperon proteinleri ve PDI (protein disülfid izomeraz) gibi proteinler senkronize bir şekilde çalışmalıdır (Bahar, Kim, & Yoon, 2016).

Glikolizasyon inhibisyonu, hipoksi, hücre içi kalsiyum metabolizmasının bozulması, oksidatif stres, viral ve bakteriyel enfeksiyonlar gibi çok sayıda etkenin proteinlerin doğru bir şekilde katlanması üzerine etkisi vardır. Hücrelerin bu şekilde stres altına girmesi ER'nin protein katlama yeteneğini azaltmakta ve katlanmamış proteinlerin hücre içerisinde birikimine yol açmaktadır (van der Kallen, van Greevenbroek, Stehouwer, & Schalkwijk, 2009). Hücrelerde katlanmamış protein birikimi toksik etkiye sahiptir ve hücreye zarar vermektedir. Hücreler genel olarak ER stresinin etkilerinden kurtulmak için UPR olarak adlandırılan sinyal yollarından oluşan bir yolu kullanmaktadır. UPR sistemi; ER işlevlerini düzenleyen kompleks bir mekanizmadır. Katlanmamış protein birikimini azaltan bir cevap oluşturarak,

ER işlevlerini düzenler. Adaptasyon sağlanamazsa ve katlanmamış protein birikimi devam ederse hücre apoptoza götürülür (Randal J. Kaufman)(Şekil 12).



Şekil 12: ER Stresine Cevap Olarak Oluşturulan Sinyal Yolları ve Hedef Moleküller (Szegezdi, Logue, Gorman, & Samali, 2006)'den düzenlenmiştir.

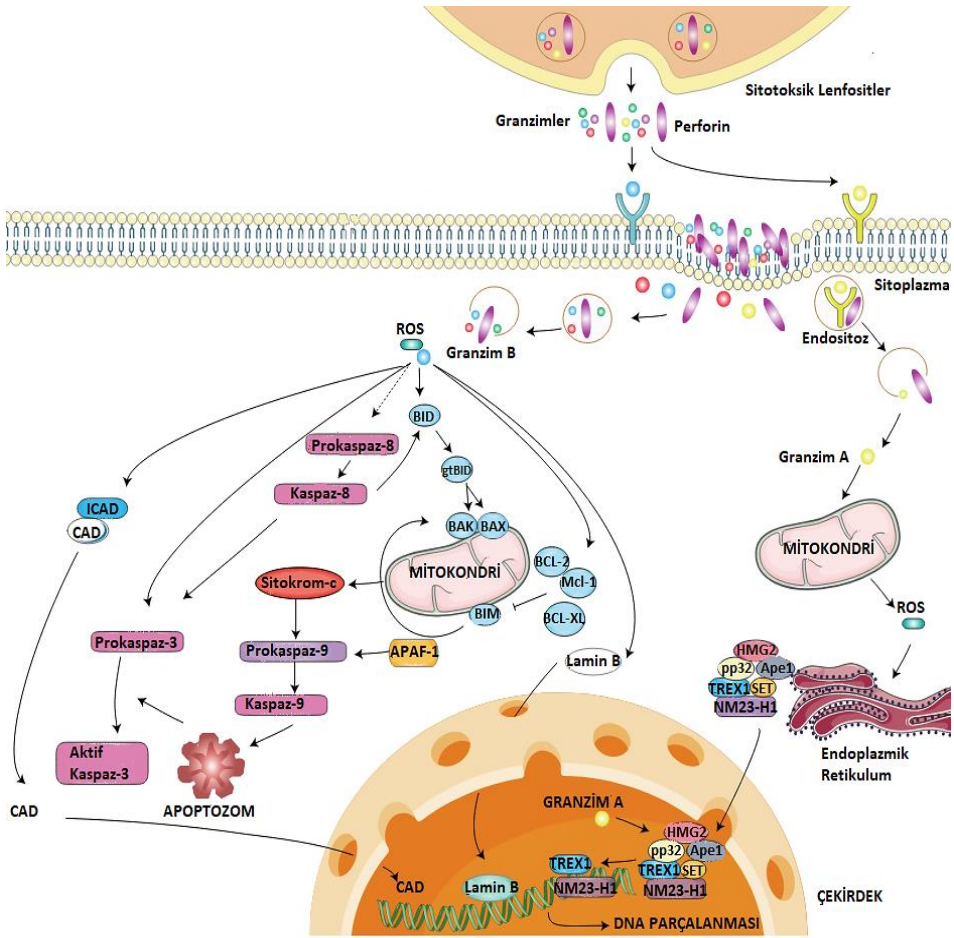
2.4. Perforin/Granzim Yolu

Perforin/granzim apoptoz yolu, sitotoksik lenfositler tarafından virüs bulaşmış veya transformasyona uğramış hücreleri ortadan kaldırmak için kullanılan birincil sinyal yoludur. Perforin, gözenek oluşturan bir proteindir ve sitoplazmik granül toksinleri olarak da bilinir. Granzim, hem adaptif hem de doğuştan gelen bağışıklıktaki öldürücü hücrelerin (sitotoksik T lenfositler ve doğal katil hücreler) sitotoksik granülleri içinde depolanan, yapısal olarak ilişkili bir serin proteaz ailesidir. Perforin ve granzim, hedef hücre apoptozunu işbirliği içinde indükler (Lieberman, 2003). Granzimler, substrat özgüllüklerinde farklılık gösteren yapısal olarak ilişkili serin proteazlardır. Bugüne kadar insanlarda A, B, H, K ve M olmak üzere beş farklı granzim tanımlanmıştır. Sitotoksik granül içeriğinin öldürücü hücre ile hedef hücre arasında oluşan immünolojik sinapsa salınması, virüslerin, hücre

İçerdiği bakterilerin ve tümörlerin immün eliminasyonu için önemlidir. Bir triptaz olan Granzyme A ve bir serin proteaz olan Granzyme B, en bol bulunan granüllerdir. Granzimlerin hedef hücrelere girişi, hücre ölümünde çok önemli bir adımdır. Granzimler, heparan sülfat proteoglikanlar ve mannoz-6-fosfat reseptörü ile elektrostatik etkileşimleri içeren reseptöre bağlı bir şekilde endozomal bölmeye girebilir. Bununla birlikte, sitoplazmaya girişleri ve ardından hücrenin öldürülmesi tamamen perforine bağlıdır (Catalfamo & Henkart, 2003; Lieberman, 2003).

Granzim A, apoptozun morfolojik özelliklerine sahip kaspazdan bağımsız bir hücre ölüm yolunu aktive eder. Hedef hücrelerin sitozolüne girdikten sonra, Granzyme A, Tim/Tom/Pam sinyal yoluyla özel olarak mitokondriye aktarılır. Sonrasında Granzyme A, matrisinde doğru çıkıntı yapan kompleks I'de bulunan NADH dehidrojenaz (uBıKinon) Fe-S protein 3'ü (NDUFS3) keserek mitokondriyal iç zarla ilişkili ETC kompleksi I'i bozar (Lucken-Ardjomande & Martinou, 2008).

Bozucu kompleks I, ROS üretimine yol açar ve elektron taşınmasına, mitokondriyal transmembran potansiyelinin korunmasına ve ATP üretimine müdahale eder. Hasarlı mitokondri tarafından üretilen süperoksit, endoplazmik retikulumla ilişkili SET kompleksinin nükleer translokasyonunu tetikler. Hücre ölümünün indüklenmesi sırasında, granzim A, iki tümör baskılayıcı protein (pp32 ve NM23-H1) ve üç Granzim-A substratı içeren SET kompleksini hedefler. SET kompleksi üç nükleaz (baz eksizyon onarım endonükleaz Ape1, endonükleaz NM23-H1 ve bir 5'-3' eksonükleaz TREX1), kromatin değiştirici proteinler SET ve pp32 ve bir bozulmuş DNA'yı tanıyan HMGB2 protein içerir. Mitokondriyal dış zar sağlam kaldığı için Sitokrom-C, HtrA2/Omi veya SMAC/DİABLO gibi proapoptotik proteinler salınmaz. ROS'a yanıt olarak ER ile ilişkili SET kompleksi çekirdeğe yer değiştirir. SET bölünmesi, tek iplikli DNA çentikleri yapmak için NM23-H1'i etkinleştirir. Bunlar, SET kompleksi eksonükleaz TREX1 tarafından genişletilir. Granzim A ayrıca bağlayıcı histon H1'i bozar ve çekirdek histonlardan kuyrukları uzaklaştırır. Bu da kromatini açar ve bu nükleazlar için erişilebilir olmasını sağlar (Chowdhury et al., 2006) (Şekil 13)



Şekil 13: Granzim A ve Granzim B'nin Apoptozda yer alması. Granzim A SET kompleksini hedefleyerek ya da mitokondriyal hasar artışı sağlayarak etki gösterir. Granzim B ise ICAD/CAD kompleksi üzerinden DNA hasarına yol açarak, mitokondriyal yol üzerinden tBİD ile etkileşim ve Sitokrom-C salınımı indükleyerek ya da doğrudan kaspaz aktivasyonuna yol açarak apoptozu tetikler (Anonim)'den düzenlenmiştir.

Granzyme B, üzerinde en çok çalışılan granzimdir ve kaspaz bağımlı apoptozun hızlı indüksiyonundan sorumludur. İnsan Granzim-B aracılı apoptozu kısmen mitokondri aracılık eder. Mitokondriyal değişiklikleri indüklemek için granzim B, proapoptotik protein Bid'i parçalayarak etki gösterir. Bölünme üzerine, tBid mitokondriye yer değiştirir. Bax/Bak ile birlikte proapoptotik proteinlerin salınması ve mitokondriyal dış zar

geçirgenliğinin artırılmasına neden olarak Sitokrom-C salınımı artırır. Sitokrom-C salınması, Smac/DiABLO, Omi/Htr-A2 ve AIF gibi apoptojenik faktörlerin salınmasına yol açar. Buna ilave olarak Granzim B, anti-apoptotik Mcl-1'in bölünmesi sonucu Mcl-1'in inaktivasyonu ile Sitokrom-C salınımını indükleyebilir. BiD aracılı mitokondriyal hasara ek olarak, Granzim B ayrıca kaspaz ve BiD'den bağımsız bir şekilde mitokondriyal transmembran potansiyelini doğrudan bozabilir (Bots & Medema, 2006). Sitokrom-C salınımı, apoptozom kompleksinin oluşumunu uyarır. Apoptozomun oluşması ile kaspaz-9'un aktivasyonu ve ardından kaspaz-3'ün aktivasyonu gerçekleşir. Granzim B ayrıca apoptoz yolunu düzenlemek için, prokaspaz-6, 7, 8, 10 ve 2'yi içeren apoptotik pro-kaspazları da substrat olarak kullanır. Aktive edilmiş kaspaz-3, ICAD/CAD gibi spesifik substratları parçalayabilir ve CAD'ın DNA'yı parçalamak için çekirdeğe yer değiştirmesini sağlar (Boivin, Cooper, Hiebert, & Granville, 2009; Chowdhury et al., 2006).

Granzyme B ayrıca, kaspazla aktive olan DNaz'ı (CAD) inhibitörü ICAD'yi doğrudan parçalayarak doğrudan serbest bırakabilir. Ayrıca, Granzim-B-parçalanmış BiD'nin etkisiyle salınan mitokondriyal protein ENDOG, oligonükleozomal DNA hasarını indükleyebilir. Böylelikle, Granzim B, kaspaz aktivasyonu bloke edildiğinde bile, DNA hasarına giden iki yolu bağımsız ve doğrudan aktive eder. Ayrıca Granzyme B, poli ADP-riboz polimeraz, DNA-pK (DNA'ya bağımlı protein kinaz), nükleer mitotik aparat proteini (NuMa) ve Lamin B gibi bilinen birkaç kaspaz substratını doğrudan işler (Lieberman, 2003)(Şekil 13).

3. SONUÇ VE BEKLENTİLER

Apoptoz, çeşitli biyokimyasal ve morfolojik özelliklerle ilişkili enerjiye bağlı bir süreç olarak kabul edilir. Kaspaz aktivasyonu, hücre ölüm tipleri arasında apoptozda kilit rol oynar. Bununla birlikte pro-apoptotik ve anti-apoptotik proteinler de apoptozun düzenlenmesinde rol oynarlar. Apoptoz mekanizmasının anlaşılması hem hücre sağ kalımı hem de hücre ölümünü dengelediği için oldukça önemlidir. Bu nedenle, apoptoz mekanizmasının ve hücre ve moleküler düzeyde ilişkili proteinlerin araştırılması ve bilgisi, apoptozun neden olduğu çeşitli hastalık patogenezine detaylı bakış açısı kazandırmaya ve böylece yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yardımcı olacaktır. Genel olarak, apoptoz mekanizmalarını hedeflemenin gelecekte klinik uygulamalarda gelişmeye devam edecek ve umut verici bir tedavi yaklaşımı olabileceği sonucuna varılabilir.

KAYNAKLAR

Anonim. Retrieved from <https://www.creative-diagnostics.com>

- Bahar, E., Kim, H., & Yoon, H. (2016). ER Stress-Mediated Signaling: Action Potential and Ca(2+) as Key Players. *Int J Mol Sci*, 17(9). doi:10.3390/ijms17091558
- Bari, K., Petrik, J., & Rumora, L. (2003). Biochemistry of apoptotic cell death. *Acta pharm*, 53, 151-164.
- Benedict, B., van Harn, T., Dekker, M., Hermsen, S., Kucukosmanoglu, A., Pieters, W., . . . Te Riele, H. (2018). Loss of p53 suppresses replication-stress-induced DNA breakage in G1/S checkpoint deficient cells. *Elife*, 7. doi:10.7554/eLife.37868
- Boivin, W. A., Cooper, D. M., Hiebert, P. R., & Granville, D. J. (2009). Intracellular versus extracellular granzyme B in immunity and disease: challenging the dogma. *Laboratory investigation*, 89(11), 1195-1220.
- Bots, M., & Medema, J. P. (2006). Granzymes at a glance. *Journal of cell science*, 119(24), 5011-5014.
- Cao, X., Littlejohn, J., Rodarte, C., Zhang, L., Martino, B., Rascoe, P., . . . Smythe, W. R. (2009). Up-regulation of Bcl-xl by hepatocyte growth factor in human mesothelioma cells involves ETS transcription factors. *The American journal of pathology*, 175(5), 2207-2216.
- Catalfamo, M., & Henkart, P. A. (2003). Perforin and the granule exocytosis cytotoxicity pathway. *Current opinion in immunology*, 15(5), 522-527.
- Chai, J., Du, C., Wu, J.-W., Kyin, S., Wang, X., & Shi, Y. (2000). Structural and biochemical basis of apoptotic activation by Smac/DIABLO. *Nature*, 406(6798), 855.
- Chen, Q., Kang, J., & Fu, C. (2018). The independence of and associations among apoptosis, autophagy, and necrosis. *Signal transduction and targeted therapy*, 3(1), 18.
- Chowdhury, D., Beresford, P. J., Zhu, P., Zhang, D., Sung, J.-S., Demple, B., . . . Lieberman, J. (2006). The exonuclease TREX1 is in the SET complex and acts in concert with NM23-H1 to degrade DNA during granzyme A-mediated cell death. *Molecular cell*, 23(1), 133-142.
- Deveraux, Q. L., Roy, N., Stennicke, H. R., Van Arsdale, T., Zhou, Q., Srinivasula, S. M., . . . Reed, J. C. (1998). IAPs block apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome c by direct inhibition of distinct caspases. *The EMBO journal*, 17(8), 2215-2223.

- Deveraux, Q. L., Takahashi, R., Salvesen, G. S., & Reed, J. C. (1997). X-linked IAP is a direct inhibitor of cell-death proteases. *Nature*, 388(6639), 300.
- Dijkers, P. F., Medema, R. H., Lammers, J.-W. J., Koenderman, L., & Coffey, P. J. (2000). Expression of the pro-apoptotic Bcl-2 family member Bim is regulated by the forkhead transcription factor FKHR-L1. *Current Biology*, 10(19), 1201-1204.
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*, 35(4), 495-516.
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*, 35(4), 495-516. doi:10.1080/01926230701320337
- Gupta, S., Agrawal, A., Agrawal, S., Su, H., & Gollapudi, S. (2006). A paradox of immunodeficiency and inflammation in human aging: lessons learned from apoptosis. *Immunity & Ageing*, 3(1), 5.
- Harris, C. C. (1996). Structure and function of the p53 tumor suppressor gene: clues for rational cancer therapeutic strategies. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 88(20), 1442-1455.
- Hegde, R., Srinivasula, S. M., Datta, P., Madesh, M., Wassell, R., Zhang, Z., . . . Alnemri, E. S. (2003). The polypeptide chain-releasing factor GSPT1/eRF3 is proteolytically processed into an IAP-binding protein. *J Biol Chem*, 278(40), 38699-38706. doi:10.1074/jbc.M303179200
- Hengartner, M. O. (2000). The biochemistry of apoptosis. *Nature*, 407(6805), 770.
- Hunter, A. M., LaCasse, E. C., & Korneluk, R. G. (2007). The inhibitors of apoptosis (IAPs) as cancer targets. *Apoptosis*, 12(9), 1543-1568. doi:10.1007/s10495-007-0087-3
- Huppertz, B., Frank, H.-G., & Kaufmann, P. (1999). The apoptosis cascade—morphological and immunohistochemical methods for its visualization. *Anatomy and embryology*, 200(1), 1-18.
- Jang, D. S., Penthala, N. R., Apostolov, E. O., Wang, X., Crooks, P. A., & Basnakian, A. G. (2015). Novel cytoprotective inhibitors for apoptotic endonuclease G. *DNA Cell Biol*, 34(2), 92-100. doi:10.1089/dna.2014.2530
- Kaelin Jr, W. G. (1999). The p53 gene family. *Oncogene*, 18(53), 7701.
- Kerr, J. F., Wyllie, A. H., & Currie, A. R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *British journal of cancer*, 26(4), 239.

- Kischkel, F., Hellbardt, S., Behrmann, I., Germer, M., Pawlita, M., Kramer, P., & Peter, M. (1995). Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *The EMBO Journal*, *14*(22), 5579-5588.
- Kluck, R. M., Esposti, M. D., Perkins, G., Renken, C., Kuwana, T., Bossy-Wetzel, E., . . . Green, D. R. (1999). The pro-apoptotic proteins, Bid and Bax, cause a limited permeabilization of the mitochondrial outer membrane that is enhanced by cytosol. *The Journal of cell biology*, *147*(4), 809-822.
- Kopnin, B. (2000). Targets of oncogenes and tumor suppressors: key for understanding basic mechanisms of carcinogenesis. *BIOCHEMISTRY C/C OF BİOKHİMİA*, *65*(1), 2-27.
- Lane, D. P., & Crawford, L. V. (1979). T antigen is bound to a host protein in SY40-transformed cells. *Nature*, *278*(5701), 261.
- Lieberman, J. (2003). The ABCs of granule-mediated cytotoxicity: new weapons in the arsenal. *Nature Reviews Immunology*, *3*(5), 361-370.
- Lucken-Ardjomande, S., & Martinou, J.-C. (2005). Regulation of Bcl-2 proteins and of the permeability of the outer mitochondrial membrane. *Comptes rendus biologiques*, *328*(7), 616-631.
- Lucken-Ardjomande, S., & Martinou, J.-C. (2008). Granzyme A, a stealth killer in the mitochondrion. *Cell*, *133*(4), 568-570.
- Luo, X., Budihardjo, I., Zou, H., Slaughter, C., & Wang, X. (1998). Bid, a Bcl2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors. *Cell*, *94*(4), 481-490.
- Miramar, M. D., Costantini, P., Ravagnan, L., Saraiva, L. M., Haouzi, D., Brothers, G., . . . Susin, S. A. (2001). NADH oxidase activity of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Journal of Biological Chemistry*, *276*(19), 16391-16398.
- Naik, E., Michalak, E. M., Villunger, A., Adams, J. M., & Strasser, A. (2007). Ultraviolet radiation triggers apoptosis of fibroblasts and skin keratinocytes mainly via the BH3-only protein Noxa. *J Cell Biol*, *176*(4), 415-424.
- Newmeyer, D. D., & Ferguson-Miller, S. (2003). Mitochondria: releasing power for life and unleashing the machineries of death. *Cell*, *112*(4), 481-490.
- Norbury, C. J., & Hickson, I. D. (2001). Cellular responses to DNA damage. *Annual review of pharmacology and toxicology*, *41*(1), 367-401.

- Oberoi-Khanuja, T. K., Murali, A., & Rajalingam, K. (2013). IAPs on the move: role of inhibitors of apoptosis proteins in cell migration. *Cell Death Dis*, 4, e784. doi:10.1038/cddis.2013.311
- Ozaki, T., Yamashita, T., & Ishiguro, S. (2009). Mitochondrial m-calpain plays a role in the release of truncated apoptosis-inducing factor from the mitochondria. *Biochim Biophys Acta*, 1793(12), 1848-1859. doi:10.1016/j.bbamcr.2009.10.002
- Parrish, A. B., Freel, C. D., & Kornbluth, S. (2013). Cellular mechanisms controlling caspase activation and function. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 5(6), a008672.
- Prives, C., & Manfredi, J. J. (1993). The p53 tumor suppressor protein: meeting review. *Genes & development*, 7(4), 529-534.
- Roy, N., Mahadevan, M. S., McLean, M., Shutter, G., Yaraghi, Z., Farahani, R., . . . Kang, X. (1995). The gene for neuronal apoptosis inhibitory protein is partially deleted in individuals with spinal muscular atrophy. *Cell*, 80(1), 167-178.
- Schultz, D. R., & Harrington Jr, W. J. (2003). *Apoptosis: programmed cell death at a molecular level*. Paper presented at the Seminars in arthritis and rheumatism.
- Schulz, W. (2005). *Molecular biology of human cancers: an advanced student's textbook*: Springer Science & Business Media.
- Schulze-Osthoff, K., Ferrari, D., Los, M., Wesselborg, S., & Peter, M. E. (1998). Apoptosis signaling by death receptors. *European journal of biochemistry*, 254(3), 439-459.
- Sevrioukova, I. F. (2011). Apoptosis-inducing factor: structure, function, and redox regulation. *Antioxidants & redox signaling*, 14(12), 2545-2579.
- Shalini, S., Dorstyn, L., Dawar, S., & Kumar, S. (2015). Old, new and emerging functions of caspases. *Cell death and differentiation*, 22(4), 526.
- Shimazu, T., Degenhardt, K., Nur-E-Kamal, A., Zhang, J., Yoshida, T., Zhang, Y., . . . Inouye, M. (2007). NBK/BIK antagonizes MCL-1 and BCL-XL and activates BAK-mediated apoptosis in response to protein synthesis inhibition. *Genes & development*, 21(8), 929-941.
- Simabuco, F. M., Morale, M. G., Pavan, I. C., Morelli, A. P., Silva, F. R., & Tamura, R. E. (2018). p53 and metabolism: from mechanism to therapeutics. *Oncotarget*, 9(34), 23780.
- Solano-Gálvez, S., Abadi-Chiriti, J., Gutiérrez-Velez, L., Rodríguez-Puente, E., Konstat-Korzenny, E., Álvarez-Hernández, D.-A., . . . Vázquez-

- López, R. (2018). Apoptosis: activation and inhibition in health and disease. *Medical Sciences*, 6(3), 54.
- Susin, S. A., Lorenzo, H. K., Zamzami, N., Marzo, I., Snow, B. E., Brothers, G. M., . . . Loeffler, M. (1999). Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Nature*, 397(6718), 441-446.
- Szegezdi, E., Logue, S. E., Gorman, A. M., & Samali, A. (2006). Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO Rep*, 7(9), 880-885. doi:10.1038/sj.embor.7400779
- Tan, Y., & Luo, R. (2009). Structural and functional implications of p53 missense cancer mutations. *PMC Biophys*, 2(1), 5. doi:10.1186/1757-5036-2-5
- Thompson, C. B. (1995). Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science*, 267(5203), 1456-1462.
- Thornberry, N. A. (1998). Caspases: Enemies Within. *Science*, 281(5381), 1312-1316. doi:10.1126/science.281.5381.1312
- Tsujimoto, Y., Cossman, J., Jaffe, E., & Croce, C. M. (1985). Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science*, 228(4706), 1440-1443.
- van der Kallen, C. J., van Greevenbroek, M. M., Stehouwer, C. D., & Schalkwijk, C. G. (2009). Endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in the development of diabetes: is there a role for adipose tissue and liver? *Apoptosis*, 14(12), 1424-1434. doi:10.1007/s10495-009-0400-4
- Varley, J., Evans, D., & Birch, J. M. (1997). Li-Fraumeni syndrome--a molecular and clinical review. *British journal of cancer*, 76(1), 1.
- Velculescu, V. E., & El-Deiry, W. S. (1996). Biological and clinical importance of the p53 tumor suppressor gene. *Clinical chemistry*, 42(6), 858-868.
- Vieler, M., & Sanyal, S. (2018). p53 Isoforms and Their Implications in Cancer. *Cancers (Basel)*, 10(9). doi:10.3390/cancers10090288
- Willis, S. N., Fletcher, J. I., Kaufmann, T., van Delft, M. F., Chen, L., Czabotar, P. E., . . . Bouillet, P. (2007). Apoptosis initiated when BH3 ligands engage multiple Bcl-2 homologs, not Bax or Bak. *Science*, 315(5813), 856-859.
- Wu, G., Chai, J., Suber, T. L., Wu, J.-W., Du, C., Wang, X., & Shi, Y. (2000). Structural basis of IAP recognition by Smac/DIABLO. *Nature*, 408(6815), 1008.
- Yin, X.-M., & Dong, Z. (2003). *Essentials of apoptosis*: Springer.

- Youle, R. J., & Strasser, A. (2008). The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nature reviews Molecular cell biology*, 9(1), 47.
- Youle, R. J., & Strasser, A. (2008). The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 9(1), 47-59. doi:10.1038/nrm2308
- Zha, J., Harada, H., Yang, E., Jockel, J., & Korsmeyer, S. J. (1996). Serine phosphorylation of death agonist BAD in response to survival factor results in binding to 14-3-3 not BCL-XL. *Cell*, 87(4), 619-628.
- Zhong, Q., Gao, W., Du, F., & Wang, X. (2005). Mule/ARF-BP1, a BH3-only E3 ubiquitin ligase, catalyzes the polyubiquitination of Mcl-1 and regulates apoptosis. *Cell*, 121(7), 1085-1095.



ISBN: 978-625-8213-64-5