

SAĞLIK BİLİMLERİ ALANINDA AKADEMİK ÇALIŞMALAR - IV

Editör: Doç.Dr. Sonat Pınar KARA

ARTİKEL AKADEMİ:1 213

Sağlık Bilimleri Alanında Akademik Çalışmalar - IV

Editör: Doç.Dr. Sonat Pınar KARA

ISBN 978-625-8088-53-3

Birinci Basım: Aralık - 2022

Ofset Hazırlık: Artikel Akademi

Baskı ve Cilt: Net Kırtasiye Tanıtım ve Matbaa San. Tic. Ltd. Şti.
Gümüşsuyu, İnönü Caddesi & Beytül Malcı Sokak 23/A,
34427 Beyoğlu/İstanbul
Matbaa Sertifika No: 47334

Artikel Akademi bir Karadeniz Kitap Ltd. Şti. markasıdır.

©Karadeniz Kitap - 2022

Akademik etik kurallara
bağlı kalınarak yapılacak olan alıntılar ve tanıtım maksadıyla yapılacak
olan kısa alıntılar dışında, yazılı izni alınmadan, tümünün veya bir
kısımının elektronik, mekanik ya da fotokopi yoluyla, basımı, yayımı,
kopyalanması, çoğaltımı veya dağıtımını yapılamaz.

KARADENİZ KİTAP LTD. ŞTİ.

Koşuyolu Mah. Mehmet Akfan Sok. No:67/3 Kadıköy-İstanbul

Tel: 0 216 428 06 54 // 0530 076 94 90

Yayıncı Sertifika No: 52549

mail: info@artikelakademi.com

www.artikelakademi.com

SAĞLIK BİLİMLERİ ALANINDA AKADEMİK ÇALIŞMALAR - IV

Editör: Doç. Dr. Sonat Pınar KARA

YAZARLAR

Aida Adıkozalova
Ayşe AYDOĞAN
Çiğdem KEKİK ÇINAR
Ebru TAŞ
Elif Afra BEŞPARMAK
Ersin AKGÖLLÜ
Gülay SENCAR
Medine DOĞAN SARIKAYA
Muhammed Sabit KIYICI
Muzaffer Aydın KETANİ
Nurşin AYDIN
Özkan DURU
Seçil YILMAZ
Şahin ASLAN
Zehra VAROL

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	7
1. BÖLÜM	
MEME KANSERİNDE FİTOTERAPİ UYGULAMALARI	
VE ARAŞTIRMALARI	9
- Ayşe AYDOĞAN,	
- Şahin ASLAN	
2. BÖLÜM	
GROWTH DIFFERNTIATION FACTOR (GDF)-15 VE	
HASTALIKLA İLİŞKİSİ	45
- Aida Adıkozalova	
- Çiğdem KEKİK ÇINAR	
3. BÖLÜM	
GASTROİNTESTİNAL SİSTEM HASTALIKLARINDA MİKROBİYOTA VE	
TAMAMLAYICI TEDAVİLERİN ETKİSİ	54
- Ebru TAŞ	
4. BÖLÜM	
EPIGENETİK & NÜTRİGENETİK BESİN	
/ GEN İLİŞKİSİ.....	73
- Özkan DURU	
- Gülay SENCAR	
5. BÖLÜM	
TEMEL HÜCRE KÜLTÜRÜ, 3 BOYUTLU HÜCREKÜLTÜRÜ VE	
METODOLOJİK GELİŞMELER.....	105
- Seçil YILMAZ	
- Medine DOĞAN SARIKAYA	
- Elif Afra BEŞPARMAK	
- Zehra VAROL	
- Muhammed Sabit KIYICI	

6. BÖLÜM

ORGANİZMANIN GÜVENLİK GÖREVLİLERİ: MÜSİNLER 125

-Nurşin AYDIN

-Muzaffer Aydın KETANİ

7. BÖLÜM

**HEPATOSELÜLER KARSİNOMA (HCC): NEDEN OLAN GENETİK VE
ÇEVRESEL ETKENLER.....137**

-Ersin AKGÖLLÜ

ÖNSÖZ

Sağlığa ulaşmak, doğru teşhise ulaşmak ve bu anlamda yapılan akademik çalışmaların önemi ve gerekliliği tartışılmaz.

Ondört yazarın yer aldığı bu kitapta, Temel Hücre Kültürü, 3 Boyutlu Hücre Kültürü ve Metodolojik Gelişmeler, Epigenetik & Nütrigenetik Besin / Gen İlişkisi, Growth Differentiation Factor (Gdf)-15 ve Hastalıkla İlişkisi, Meme Kanserinde Fitoterapi Uygulamaları ve Araştırmaları, Organizmanın Güvenlik Görevlileri: Müsinler, Hepatoselüler Karsinoma (Hcc): Neden Olan Genetik ve Çevresel Etkenler başlıklı bilimsel çalışma yer almaktadır.

Sağlık Bilimler Alanında Akademik Çalışmalar - IV yer alan bölümler, Artikel Akademi'ye sunulan çalışmalar arasından bilim ve yayın kurulu tarafından seçilerek ve hakem değerlendirmesine tabi tutularak yayınlanmıştır.

Bu kitapta yer alan bilimsel/ akademik çalışmaların sağlık alanında çalışan akademisyenlere ve ilgilere katkı sunması temennimizdir.

- Doç.Dr. Sonat Pınar KARA

1. BÖLÜM

MEME KANSERİNDE FİTOTERAPİ UYGULAMALARI VE ARAŞTIRMALARI

Dr. Ayşe AYDOĞAN,
*Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji
ve Embriyoloji AD, KARS*
Orcid: 0000000173176486

Prof. Dr. Şahin ASLAN,
*Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve
Embriyoloji AD, KARS*
Orcid: 0000000245659832

1. MEME KANSERİ

Kanser; apoptozis mekanizması bozulan, kontrolsüz bir şekilde bölünen hücrelerin aşırı çoğalması sonucu oluşan, neoplastik bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (Alberts ve ark. 2002). Kanser sözcüğü, Yunanca'da yengeç anlamına gelen 'canceros' kelimesinden köken almaktadır. 'Genesis' ise yine Yunanca köken anlamına gelmektedir. Karsinogenez terimi bu sözcüklerin birleştirilmesiyle türetilmiştir (Vogelstein ve Kinzler 2002). Karsinogenez, hücrelerin kontrolden çıkan proliferasyonu, büyümesi ve farklılaşması gibi biyolojik olayları etkileyen bir veya birden fazla mutasyonun aşamalı olarak meydana gelmesiyle oluşmaktadır. Gelişen mutasyonlarla birlikte karsinogenez, protoonkogenlerin aktivasyonunu ve/veya tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonundan kaynaklanan bir süreçtir (Vogelstein ve Kinzler 2002). Kanser türleri, kanserlerin olduğu organlar veya dokulara göre adlandırılır.

maktadır. Örneğin meme dokusunda gelişen kanser meme kanseri olarak adlandırılmaktadır (Jaramillo ve Tibiche 2010).

Kanser prevalansı giderek artan ve insanların yaşam kalitesini olumsuz etkileyen bir hastalıktır. Dünya genelinde kardiyovasküler hastalıklardan sonra en çok ölümlü sonuçlanan hastalıklardan biridir (Kaur ve ark. 2018). Dünya Sağlık Örgütü'nün deklare ettiği verilere göre bulaşıcı olmayan hastalık kaynaklı ölümlerin %63'ünün kanser ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Sankari ve ark. 2012). Kadınlarda en sık rastlanan kanser türlerinin meme ve akciğer kanserleri olduğu belirtilmektedir (Miller ve ark. 2016).

2020 yılında dünya genelinde 19,3 milyon yeni kanser tanısı konduğu ve kansere bağlı mortalite oranının 10 milyon olduğu bilinmektedir (Sung ve ark., 2021). Amerikan Kanser Derneği'nin Amerika Birleşik Devleti'inde yaptığı araştırmanın verilerine göre; 2012-2017 yıllarında, meme kanseri insidansı yılda % 0.3 oranında artmıştır. 1989-2017 ölüm hızının % 40 oranında düştüğü ve bu yıllarda 375.900 meme kanseri vakasının mortalite ile sonuçlandığı bildirilmiştir (Cordasa,2019). Kadınlarda meme kanseri en sık görülen kanser tipidir (toplam vakaların %11,7'si). Bunu akciğer (%11,4), kolo-rektal (%10), prostat (%7,3) ve mide (%5,6) kanserleri takip etmektedir. Kadınlarda meme kanseri, kanserden kaynaklanan ölümlerin en önde gelen nedenidir (IARC, 2021).Yapılan araştırmalara göre 2020'deki 19,3 milyon kanser vakasının %47'lik bir artışla 2040 yılında 28,4 milyon vakaya çıkması tahmin edilmektedir (Sung ve ark., 2021).

Ülkemizde meme kanseri insidansı giderek artmaktadır. Son yıllarda meme kanseri prevalansında iki kat artış olduğu bilinmektedir (24/100.000 1994 ve 43,8 / 100,000 2015). Kanser Kayıt Birimi Kontrol Departmanı tarafından 2015'te yayımlanan rapora göre; 2015 yılında meme kanseri tanısı konan 17.183 vaka bildirilmiştir (Özmen, 2008).

Kanserin günümüzde ve gelecek nesillerdeki insanlar için daha büyük tehdit oluşturacak olması, bu alanlarda yapılan çalışmaların artmasına neden olmaktadır. Bitkisel tedavi çalışmalarından alınan olumlu sonuçlar değerlendirildiğinde fitoterapiye yönelimde artışı olduğu görülmektedir (Jones ve ark., 2019).

2. TIBBİ BİTKİLERİN TARİHÇESİ

Bitkilerin, halk arasında tedavi amacıyla kullanılması insanlık tarihiyle başlar. Herbal kökenli ilaçların kullanımı, kimyasal ilaç dönemin başlaması ve ilerlemesi ile bir dönem popülerliğini kaybetse de günümüzde farmakolojik tedavi ajanlarının, yan etkilerinin fazla olmasından dolayı insanlar tekrar bitkilerle tedaviye yönelmiş durumdadır (Yücel ve Tülükoğlu, 2000).

Kitabeler ve arkeolojik kazılardan elde edilen materyaller, bitkilerin ilk insanlardan beri geniş bir kullanım alanına sahip olduğunu kanıtlar niteliktedir. Osmanlı, Hitit, Mezopotamya, Grek gibi birçok uygarlıkta bazı bitkilerin herbal tedavilerde kullanıldığı bilinmektedir. Anadolu’da, haşhaş ve safran gibi bazı tıbbi bitki droglarının kullanımı Hititler dönemine kadar dayanmaktadır (Dağcı vd., 2005). Tıbbi bitkilerin, ilk defa M.S. birinci yüzyılda Yunan hekim Dioscorides tarafından De Materia Medika (Şifalı Bitkiler) eseri ile yazılı hale getirildiği bilinmektedir. Aynı dönemde Theophrastus tarafından yazılan “Bitkiler Tarihi” adlı kitabı da bu konudaki önemli kitaplardan bir tanesidir (Jain vd., 2007). Modern tıbbın kurucusu olarak kabul edilen Hippocrates ve Yunan tıbbının önemli isimlerinden biri olan Eskulap, kitaplarında 400’e yakın bitkisel ürünü anlatmışlardır. İslam uygarlığı döneminde Ebu Reyhan, yazdığı “Kitab-al Saydalafi al Tıp” adlı kitabında yirmiye yakın tıbbi bitkiden bahsetmiştir (Saymer, 2011). Türk ve İslam aleminde tanınan ve tüm dünyaya adını duyuran Biruni Bitkisel Tıp ile ilgili önemli eserlere imza atmış bir bilim adamıdır. Biruni, “Kitab-üs Saydala” adlı eseriyle bitkisel tedavileri açıklayarak eczacılığın temelini oluşturmuştur (Kuzu, 2015a). Yine dünya genelinde tanınan İbni Sina, bitkisel tedavi alanında yazmış olduğu “El-Kanun fi’t-Tıp” ve “Kitabu’ş-Şifa” adlı kitaplarıyla bu alanda da adından söz ettirmiştir (Kuzu, 2015b).

Günümüzde farmakolojinin gelişmiş olmasına rağmen insanlar bitkilerin geleneksel kullanımına hala devam etmektedir. Çeşitli kültürlerde halk tarafından ilgi gören tıbbi bitkiler, fitoterapi adı altında bilim insanları tarafından ilgi görmekte ve bu alanda yapılan çalışmalar popüler hale gelmiş durumdadır (Hacıoğlu, 2005).

3. FİTOTERAPİ

Fitoterapi; Yunanca kökenli bitki anlamına gelen “*phyton*” ve tedavi anlamına gelen “*therapeia*” sözcüklerinden oluşmaktadır. Günümüzde birçok bitki türü çeşitli hastalıkların tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır (Farrar ve Farrar, 2020). Fitoterapi; ilk olarak Mezopotamya bölgesinde kullanılmış olup, günümüzde Çin ve Güney Kore gibi uzak doğu ülkelerinde hala yaygın olarak kullanılmaktadır. Fitoterapi gelişmiş ülkelerde, Uzakdoğu ülkelerine kıyasla daha az tercih edilse de Dünyanın çeşitli bölgelerinde kanser gibi birçok hastalığın tedavisinde sıklıkla tercih edilmektedir. Bu yaygın kullanımın en önemli nedeni farmakolojik ilaç kullanımlarının yan etkileri olduğu bilinmektedir. Fitoterapi terimi, ilk kez 1870- 1953 yılları arasında Fransız hekim Henri Leclerc tarafından La Presse Medical adlı dergide kullanıldığı bilinmektedir. Leclerc’in tanımına göre fitoterapi; tedavi edici özelliklere sahip olan bitkilerden elde edilen droglarla ya da ekstraksiyon ürünleriyle hastalıkların tedavi edilmesidir (Hacıoğlu, 2005).

Sonuç olarak Fitoterapi; tıbbi bitkilerin, geleneksel kullanımı, deneysel gözlemler, *in vitro*, *in vivo* ve terapötik etkilerin klinik incelemesine dayanan sistematik bir uygulamadır (Ghosh, 2016).

Fitoterapi yüzyıllardır kullanılmaktadır ancak çağımızda, daha önce tanımlanamayan ve modern tıbbi yöntemlerle tedavi edilemeyen kanser gibi hastalıklar fitoterapiyi yeniden popüler konuma taşımıştır. Kanserin morbidite ve mortalitesindeki artış kanser hastalarında yeni arayışlara neden olmakta ve onları bitkisel tedaviye sürüklemektedir (Wang ve ark., 2020). Kanser tedavisinde kullanılan modern yöntemler ve farmakolojik ilaçların ekonomik maliyetinin yüksek olması, ilaçların yan etkileri gibi nedenler fitoterapiye yönelimin başında gelmektedir. Fitoterapi uygulamalarında bitkilerin etkili olduğu ve yan etki göstermediği düşüncesi yine fitoterapi tercihleri arasında sayılmaktadır (Pezzani ve ark., 2019).

4.FİTOTERAPİ VE KANSER

Yapılan araştırmalar 1981-2006 yılları arasında geliştirilen ilaçların %32'sinin doğal ürünlerden ya da yarı sentetik ürünlerden esas alınarak geliştirildiğini göstermektedir. Günümüzde yapılan ilaçların neredeyse yarısının doğal kaynaklardan esas alması ilaç geliştirme çalışmalarını hızla bitkisel kaynaklara yönlendirmektedir. Kanser tedavisinde kullanılan taxan grubu paclitaxel ve docetaxel; kamptotesin türevi irinotekan ve topotekan başta olmak üzere satılan antikanser ilaçların da yaklaşık üçte biri doğal kaynaklı bileşiklerden oluşmaktadır (Sezgin, 2010). Yapılan bazı araştırmalar kanser immunoterapisi açısından bitkisel ilaçların olumlu yanıtlarını ortaya koymuştur. Meme, yumurtalık, Prostat ve Akciğer kanseri hücreleri gibi tümör hücrelerinin proliferasyonunu ve metastazını azalttığı ve hücrelerdeki apoptozu arttırdığını göstermiştir (Wang ve ark., 2020). Son yıllarda yapılan bir çalışmada bitkisel karışımdan oluşan bir fitoterap ürününün makrofajların tümör hücreleri üzerindeki öldürücü etkilerini güçlendirdiği bildirilmiştir (Liang ve ark., 2018). 3 farklı *Malus* türünü (*M. floribunda*, *M. coronaria*, *M. domestica*) inceleyen Harada ve arkadaşları, Japon elması (*M. floribunda*) bitkisinin hücre proliferasyonunu azalttığını ortaya koymuşlardır (Harada ve ark., 2005). 42 yaban elması (*Malus spp.*) meyve ekstraktının HL-60 insan kan kanseri hücrelerine uygulandığında hücre proliferasyonuna karşı güçlü inhibisyon gösterdiği bildirilmiştir (Yoshizawa et al., 2004). Sung ve Lee, 2010 yılında yaptıkları bir çalışmada 10 farklı asmadan (*V. vinifera*) elde edilen üzüm çekirdeklerinin antiproliferatif aktivitelerini incelemişlerdir. Uygulanan bitkisel ürünün MCF-7, NCI-H460, HCT116 ve MKN45 kanser hücrelerine karşı yüksek antiproliferatif aktiviteye sahip olduklarını belirlemişlerdir (Sung ve Lee, 2010).

5. MEME KANSERİNDE FİTOTERAPİ

Meme kanserinin tedavisinde cerrahi, kemoterapi, radyoterapi, hormonoterapi ve immunoterapi gibi birçok tedavi yöntemi bulunmaktadır. Hastaya uygulanacak tedavi, hastanın klinik durumu göz önünde bulundurulurken bir veya birden fazla yöntem kombine olarak tercih edilmektedir (Aydiner ve Topuz, 2006). Uygulanan tedavi sürecinde hastalarda; alopesi mukozit, iştah-

sızlık, bulantı-kusma, diyare, konstipasyon, depresyon gibi sorunlara yol açtığı ve hasta bireyin yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir (Kurt ve Unsar, 2011). Hastalarda görülen bu yan etkiler hastaları farklı tedavi arayışlarına sürüklemekte ve fitoterapiye olan ilgiyi arttırmaktadır (Liao ve ark., 2013). Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde tıbbi bitkilerin kullanımına eğilim giderek artmaktadır. Dünyada kanser hastaları arasında herbal tedavi kullanım oranının %7.0-84.0 olduğu, Türkiye’de yapılan araştırmalara göre bu oranın %36.0-70.0 arasında değiştiği bilinmektedir (Algier ve ark., 2005, Özlem ve ark., 2008).

Günümüzde Meme kanserinde kullanılan ilaçların bazıları bitkilerden elde edilmektedir. *T. Canadensis*, *T. Brevifolia* ve *T. baccata* bitkilerinden izole edilip paklitakselden hazırlanmış bitki özlerinin 1990’larda ABD’de kullanıldığı ve ileri derece meme kanseri, over kanseri ve akciğer kanserinde kanseri tedavi edici etki gösterdiği bilinmektedir (Tagne ve ark., 2015).

Yapılan literatür taramalarına göre, Meme kanseri fitoterapisinde kullanılan ve hem *in vivo* hem de *in vitro* araştırmalarda yararlanan dünya genelinde birçok bitki türü bulunmaktadır. Bu bitkilerden bazıları; *Nigella sativa*, *Viscum album*, *Curcuma longa*, *Punica granatum*, *Ziziphus jujuba*, *Allium sativum*, *Uncaria guianensis*, *Actaea racemosa* (*Cimicifuga racemosa*), *Camellia sinensis*, *Panax ginseng*, *Panax japonicus* -*Panax quinquefolius*, *Scutellaria barbata*, *Linum usitatissimum*, *Salvia* Türleri (*Salvia bracteata*, *Salvia rubifolia*, *S. Syriaca*, *S. fruticosa* ve *S. horminum*), *Arctium lappa*, *Vernonia amygdalina* ve *Withania somnifera*’dır.

5.1. *Nigella sativa* (Çörek Otu)

Çörek otu olarak da bilinen *N. sativa*, Ranunculaceae familyasına yer alan tek yıllık çiçekli bir bitkidir (Yarnell ve Abascal, 2011). *N. sativa* tohumlarında yağ (%28.5), protein (%26.7), karbonhidrat (%24.9), toplam kül (%4.8) ve ham lif (%8.4) bulunmaktadır (Al-Jassir, 1992, Nickavar ve ark., 2003). Tohumlarında 100’ün üzerinde biyoaktif bileşik mevcuttur ancak farmakolojik olarak önemli olanlar; timol, timohidrokinon, timokinon ve ditimokinondur (Ali ve Blunden, 2003).

N. sativa’nın biyoaktif moleküllerinden biri olan timokinonun, meme kan-

serinde apoptozisi indükleyerek tümörjenezini inhibe ettiğini bildiren birçok *in vitro* çalışma bulunmaktadır (Sundaravadivelu ve ark., 2019, Ahmad ve ark., 2019). Timokinonun antineoplastik aktiviteye sahip olduğu ve MDA-MB-468 meme kanseri hücrelerinde apoptozu indüklediği bildirilmiştir (Rajput ve ark., 2013). Başka bir çalışmada, timokinon, tümör baskılayıcı gen olan p53 ekspresyonunu arttırarak MCF-7 meme kanseri hücre hattında apoptozu indüklediği belirtilmiştir (Dastjerdi ve ark., 2016). Benzer şekilde, MCF-7 insan meme kanseri hücre hattına timokinon uygulamasının, hücre döngüsünün S fazı ve G2 fazında durmasına bağlı olarak proliferasyonu inhibe ettiği bildirilmiştir (Motaghed ve ark., 2013). *N. sativa* metanolik ekstraktının (2.5-5 µg/mL'lik dozlarda) MDA-MB-231 hücrelerinde apoptozu indüklediği ve proliferasyonu baskıladığı tespit edilmiştir (Dilshad ve ark., 2012). *N. sativa* tohumlarının metanolik ekstraktının MCF-7 hücrelerine uygulanmasıyla p53 ekspresyonunun arttığı dolayısıyla tümör gelişimini inhibe ettiği belirtilmiştir (Alhazmi ve ark., 2014). Timokinonun MDA-MB-231 meme kanseri hücreleri üzerindeki anti-proliferatif etki gösterdiği belirtilmiştir (Woo ve ark., 2014). *N. sativa*'dan elde edilen timokinonun meme kanserinde tümör büyümesini ve metastazını baskıladığı *in vitro* ve hayvan modellerinde yapılan araştırmalarla belirtilmiştir (Korak ve ark., 2020, Imran ve ark. 2018). Timokinonun, meme kanseri hücrelerinde CXCR4 ekspresyonunu azaltarak anti-metastatik etki gösterdiği bildirilmiştir (Shanmugam ve ark., 2018). Timokinonun *in vivo* olarak farelere uygulandığı bir çalışmada, farelerde meme kanseri hücrelerinin migrasyonunu ve invazyonunu azalttığı bildirilmiştir (Khan ve ark., 2015). *N. sativa* tohumlarının MCF-7 hücrelerinde, anti-metastatik etki gösterdiği belirtilmiştir (Baharetha ve ark. 2013). *N. sativa* timokinonun meme kanserinde Id-1, Brac2, Bra1 ve p53 mutasyonlarının gen ekspresyonunu azalttığı dolayısıyla meme kanserinde koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir (Linjawi ve ark., 2015). Başka bir çalışmada, timokinonun farelerde (20 ve 100 mg/kg) ve MDA-MB-231 tümörlerinin ilerlemesini azalttığı ayrıca farelerde ökaryotik uzama faktörü 2 kinazını (eEF-2K) inhibe ettiği bildirilmiştir (Kabil ve ark., 2018).

Timokinonun antikanser ilaçlara kombinasyonun, sinerjik etki göstererek kemoterapötik potansiyelini artırabileceğini gösteren yayınlar bulunmaktadır. Timokinonun ve bir kemoterapötik ilaç olan tamoksifenin, MDA-MB-231 ve MCF-7 hücre hatlarına uygulandığı bir çalışmada, her iki hücre hattında apop-

tozun indüklendiği ve hücre canlılığının azaldığı bildirilmiştir (Ganji-Harsini ve ark., 2016). Timokinonun yine bir kemoterapötik ilaç olan Doksorubisin ile kombinasyonunun meme kanseri hücre hatlarında sinerjik etki göstererek ilacın anti-tümör aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (Ganji-Harsini ve ark., 2016, Woo ve ark., 2013). Timokinonun MCF-7 ve T47D meme kanseri hücrelerine paklitaksel ile uygulandığı bir çalışmada Timokinonun paklitaksel direncinde azalmaya yol açtığı ve özellikle MCF-7 kullanımında apoptotik hücre ölüm yüzdesinde artış olduğu belirlenmiştir (Bashmail ve ark., 2020). Siklofosfamid, ilerlemiş meme kanserini tedavi etmek için kullanılan bir kemoterapi ilacıdır (Perroud ve ark., 2016). Khan ve ark. Timokinonun tek başına ve siklofosfamid ile kombinasyon halinde Her2-MDA-231 ve Her2+ SKBR-3 meme kanseri hatlarının büyümesi üzerindeki sinerjik etkisini incelemiştir. Timokinon ve siklofosfamid kombinasyonu, G1 fazında kanser hücrelerinin proliferasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği belirtmişlerdir (Khan ve ark., 2019).

5.2. *Viscum album* (Ökse Otu)

Ökse Otu olarak bilinen *V. album*; Viscaceae familyasında bulunan, her mevsim yapraklı olan ve ağaçlar üzerinde yaşayan yarı asalak bir bitki türüdür. Avrupa, Batı ve Güney Asya'da yabani olarak yetişmektedir. *V. album* farklı türde biyoaktif bileşenler içermektedir ancak antikanser ve immünomodülatör etkilerden sorumlu olan ana bileşeni lektinlerdir (ML-I, ML-II ve ML-III) (Hajto ve ark., 1994, Pryme ve rak., 2006). Yapılan literatür taramaları *V. Album*'un; *in vivo*, *iv vitro* ve klinik çalışmalarda kansere karşı kullanıldığı ve antitümör aktivite gösterdiği açıklamaktadır. Antitümör etki mekanizması ise apoptoz indüksiyonu, hücre döngüsü inhibisyonu (Harmsma ve ark., 2006, Ramaekers ve ark., 2007) ve bağışıklık sistemi aktivasyonu (Gardin, 2009, Sonve ve ark., 2010) şeklindedir.

Farklı *in vitro* çalışmalarda, *V. album* ekstresinin meme kanseri hücre hatlarına karşı antiproliferatif etki gösterdiği bilinmektedir (Kelter ve ark., 2007, Weissenstein ve ark., 2014). Kelter ve ark. yaptığı çalışmada *V. album* ekstresinin, insan meme kanseri hücre hatlarında hücre büyümesini baskıladığını ve sitotoksik aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir (Kelter ve ark., 2007). Weissenstein ve ark., insan meme kanseri hücre hatlarına (HCC 1143 ve HCC 1937), *V. album* ekstresi ve kemoterapötik bir ilaç olan doksorubisin uygu-

layarak herhangi bir bitki-ilaç etkileşiminin meydana gelmediğini ayrıca *V. Album*'un tamamlayıcı antikanser etki gösterdiği bildirilmiştir (Weissenstein ve ark., 2014). Başka bir çalışmada SK-BR-3 meme kanseri hücre hattına *V. album* ekstresi ve kemoterapötik bir ilaç olan trastuzumab uygulanarak herhangi bir bitki-ilaç etkileşiminin olmadığı ayrıca *V. Album*'un tamamlayıcı bir antikanser etki gösterdiği belirtilmiştir (Weissenstein ve ark., 2016). *V. Albüm*'un etken maddelerinden biri olan lektinin doksorubisin ile kombine edilerek meme kanseri hücre hatlarına (MCF-7 ve MDA-MB 231) uygulandığı bir çalışmada, lektinin doksorubisin ile sinerjik antikanser etki göstererek hücre büyümesini inhibe ettiği bildirilmiştir (Hong ve ark., 2014). Meme kanseri olan farelere uygulanan *V. Album*'un doza bağlı olarak antikanser aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Beuth ve ark., 2006). Kemoterapi alan meme kanseri hastalarında yapılan çalışmalarda, *V. Album*'un kemoterapinin yan etkilerini azalttığı, hayatta kalma oranı arttırdığı ve kanser remisyonunu azalttığı bildirilmiştir (Troger ve ark.,2014, Troger ve ark., 2012, Eisenbraun ve ark. 2011, Eisenbraun ve ark.,2008). Meme kanseri olan (tümör çapı \geq 2 cm) 12 kadında yapılan klinik bir çalışmaya göre, *V. Album*'un tümör çapını altı ayda azalttığı bildirilmiştir (Roy, 2015).

5.3. *Curcuma longa* (Zerdeçal)

C. longa; Zingiberaceae familyasına ait çok yıllık çiçekli bir bitki olup yaygın olarak zerdeçal olarak bilinmektedir. *C. longa* ana aktif maddesi kurkuminoid'tir (Priyadarsini ve ark., 2014). Kurkuminoidler doğal polifenol bileşikleridir ve diferuloilmetan (kurkumin I), desmetoksik kurkumin (kurkumin II) ve bisdemetoksik kurkumin (kurkumin III) olmak üzere üç tipi bulunmaktadır (Priyadarsini ve ark., 2017).

Genel olarak *C. Longa*'nın meme kanseri üzerindeki antikanser aktiviteleri; hücre proliferasyonunun inhibisyonu, apoptoz ve G2/M fazında hücre döngüsünün durdurulması şeklindedir (Pate ve ark., 2020). MCF-7 meme kanseri hücrelerinde yapılan bir çalışmada, kurkuminin, NF- κ B ekspresyonunu baskılayarak metastazı engellediği belirtilmiştir (Zong ve ark., 2012). Benzer bir şekilde kurkuminin, T47D insan meme kanseri hücrelerine uygulandığı bir çalışmada NF- κ B sinyali regülasyonunu engelleyerek invazyonu ve metastazı engellediği belirtilmiştir (Coker-Gurkan ve ark., 2019). MDA-MB-231,

MCF-7 ve MDA-MB-453 meme kanseri hücrelerinin kullanıldığı başka bir çalışmada, kurkuminin, NF- κ B sinyallerini baskılayarak metastazı engellediği rapor edilmiştir (Coker-Gurkan ve ark., 2018). Kurkumin'in MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde, Beta-catenin ekspresyonunu baskılayarak hücre proliferasyonunu inhibe ettiği ayrıca apoptozisi indüklediği belirtilmiştir (Prasad ve ark., 2009). Kurkumin uygulanan MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde, AKT sinyal yolağını baskılandığı dolayısıyla antitümör aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Guan ve ark., 2016). *C. Longa* uygulanan MCF-7 meme kanseri hücrelerinde, PI3K/AKT sinyal yolunu baskılandığı ve apoptozisin indüklediği bildirilmiştir (Akkoç ve ark., 2015). MCF-7 meme kanseri hücrelerine uygulanan kurkumin'in miR-21'i baskılayarak hücre büyümesini inhibe ettiği ve apoptozu indüklediği belirtilmiştir (Wang ve ark., 2017). MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinin kullanıldığı başka bir çalışmada kurkuminin, onkojenik miR-19b ve miR-19a'yı baskılayarak antitümör aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Li ve ark., 2014). Aynı çalışmada Kurkumin'in miR-19/PTEN/Akt/p53 yolunu düzenleyerek tümör oluşumunu baskıladığı da belirtilmiştir (Li ve ark., 2014). *C. Longa* ile birlikte uygulanan kemoterapötik bir ajan olan paklitaksel, dişi farelerde ve MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinde proliferasyon inhibisyonunda ve apoptozis indüksiyonunda sinerjik etki gösterdiği bildirilmiştir (Zhan ve ark., 2014). Benzer şekilde, paklitaksel ve kurkumin, MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerinde Rho-A, p53, c-Ha-Ras ve Bcl-2 ekspresyonlarını baskılayarak antitümör aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Quispe-Soto ve Calaf, 2016). Bayet-Robert ve Morvan'ın, yaptığı çalışmada kurkumin tek başına veya docetaxel ile birlikte MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanseri hücrelerinde glikoz kullanımını, lipid ve glutatyon metabolizmasını indüklediği bildirilmiştir (Bayet-Robertve ark., 2013). Yapılan başka bir çalışmada MCF-7, SKBR3 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerine uygulanan *C. Longa*'nın, kanser hücrelerini 5-FU'ya daha duyarlı hale getirdiği belirtilmiştir (Vinod ve ark., 2013).

5.4. *Punica granatum* (Nar)

P. granatum; Punicaceae ailesinde yer alan bir meyvedir. *P. granatum*'da bulunan bazı bileşenler; aminoasitler, gallik asid, fenolik punikalaginler, askorbik asid, gallik antosiyanin, glukoz, ellagik asid, kateşin, asid, flavonol-

ler ve antosiyanidindir. *P. granatum* içerdiği biyoaktif bileşenleri sayesinde birçok tıbbi alanda kullanılmaktadır. İn vitro olarak kullanılan *P. granatum* ekstrelerinin prostat, meme, akciğer ve kolon kanseri hücrelerinde büyüme-yi engellediği bildirilmiştir (Ahmadiankia, 2019). İnsan meme kanseri hücre hatlarına (MBMDA-231 ve MCF-7) fermente *P. granatum* suyu ve taze *P. granatum* suyu uygulanmasıyla MCF7 hücrelerinde proliferasyonun %90 civarında inhibisyona uğradı bildirilmiştir (Lansky ve ark., 2005). Yapılan başka bir çalışmada *P. granatum*'un dört farklı kanser hücre hattına uygulandığı (MDA-MB-231, MCF-7 ve meme kanseri, HeLa rahim kanseri hücreleri, Caov-3 yumurtalık kanseri) ve *P. granatum*'un kanser hücrelerinde antiproliferatif etki gösterdiği bildirilmiştir (Akim ve ark., 2011). MCF-7 kanser hücrelerinde konsantrasyon ve zamana bağımlı olarak sitotoksik ve apoptotik etkisinin olduğunu belirtilmiştir (Jeune ve ark., 2005). *P. granatum* ekstreleri ve genisteinin MCF-7 hücrelerinde antiproliferatif etki gösterdiği de bildirilmiştir (Dikmen ve ark., 2008).

5.5. *Ziziphus jujuba* (Hünnap)

Dünya'nın çeşitli bölgelerinde yabani olarak yetişen *Z. jujuba*, Hünnap olarak bilinen cehrigiller (Rhamnaceae) familyasının bir üyesidir. İçeriğinde birçok biyoaktif bileşen bulunmaktadır. Bu bileşenler; fenolik asit, polisakaritler triterpenik asit, flavonoidler, ve aminoasitler gibi kanser hücrelerinin çoğalmasını engelleyen ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde rol oynayan bileşiklerdir (Huang ve ark., 2017). Bunlara ek olarak oleik, linoleik, palmitik ve palmitoleik gibi doymamış yağ asitleri açısından da zengin olduğu bilinmektedir (Keleş, 2020, San ve Yıldırım, 2010). *Z. jujuba*'nın kanser hücrelerine karşı sitotoksik etki gösterdiği belirtilmiştir. İçerdiği tripertenik asit ve polisakaritler başta olmak üzere birçok biyoaktif maddeden dolayı kanser hücrelerinde apoptozu tetiklediği bildirilmiştir (Tahergorabi ve ark., 2015). Yapılan bir çalışmada *Z. jujuba* ekstresinin MCF-7 ve SKBR3 meme kanser hücre dizilerinde apoptozu tetikleyerek hücre büyümesini engellediği belirtilmiştir (Plastina ve ark., 2012).

5.6. *Allium Sativum* (Sarımsak)

A. sativum, soğan cinsine ait ılıman iklimlerde yetişen soğanlı çok yıllık bir bitkidir (Block ve ark., 2010). *A. sativum*, yüksek miktarda kükürt içeren bileşiklere sahiptir ayrıca allisin, flavonoidler ve saponinler gibi biyoaktif bileşenden oluşmaktadır (Amagase ve ark., 2006). 1990'da Amerika Birleşik Devletleri Kanseri Enstitüsü, *A. Sativum*'un kanseri önleyici özelliklere sahip bir gıda olduğunu deklare etmiştir (Dahanukar, 1997). Ayrıca, prelinik araştırmalar, *A. sativum* ve organosülfür bileşiklerinin çeşitli organlarda tümör oluşumunu inhibe ettiğini bildirmiştir (Knowles ve Milner, 2001). Son yıllarda, *A. Sativum* biyoaktif bileşenlerinin, özellikle allilsülfid türevlerinin anti-tümör etkilerini bildiren *in vitro* ve *in vivo* çok sayıda çalışma yapılmıştır.

Yapılan çalışmalar çalışmalar, *A. sativum* ve türevlerinin, özellikle diallil disülfid'in, deneklerde meme kanseri gelişimini azalttığı ayrıca hücre kültüründe insan meme kanseri hücrelerinin büyümesini baskıladığı bildirilmiştir (Omar ve Al-Wabel, 2010, Tsubura ve ark.,2011). *A. Sativum*'un antikanser etkisi; apoptozun uyarılmasını, hücre döngüsünün durdurulması ve düzenlenmesinde aktif olan enzimlerin indüklenmesi şeklinde özetlenmektedir (Modem ve ark., 2012). *A. sativum* ekstraktlarının ve biyoaktif bileşenlerinin, insan meme kanseri hücre dizilerinde, özellikle MDA-MB-231 ve MCF-7'nin büyümesini baskıladığı ve apoptozu indüklediği bildirilmiştir (Ghazanfari ve ark., 2011, Bagul ve ark.,2015, Hirsch ve ark., 2000). Hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak yapılan bir çalışmada Dialil disülfid'in, hücre büyümesini engelleyerek anti-tümör aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Hirsch ve ark., 2000). Benzer bir çalışmada, diallil trisülfür'ün, MCF-7'de p53 protein ekspresyonunu artırarak antitümör aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Malki ve ark., 2009). Meme kanseri ve sarımsak alımı arasındaki ilişkinin değerlendirildiği bir çalışmada 314 meme kanseri hastasının sıklıkla tükettiği gıdalar anket kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, meme kanseri ile yüksek sarımsak tüketimi arasında ters bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Desai ve ark., 2019).

5.7. *Uncaria guianensis* (Kedi Peçesi)

Rubiaceae familyasının üyesi olan, *U. guianensis* ve *U. tomentosa*

genellikle ‘Kedi Pençesi’ olarak bilinmektedir. Kedi pençesi, Güney ve Orta Amerika’nın tropikal ormanlarında yabancı olarak yetişen odunsu bir bitkidir. Literatüre göre, bu bitkinin bağışıklık uyarıcı ve antioksidan özellikleri nedeniyle meme kanseri hastalarında umut vaat edici olduğu bilinmektedir (Riva ve ark., 2001). Çeşitli farmakolojik özellik gösteren birçok biyoaktif bileşene sahiptir. İçerdiği biyoaktif bileşenler genel olarak glikozitler, tanenler, flavonoidler ve sterol fraksiyonlarıdır (Rossi ve ark., 2014).

Literatürde Kedi Pençesi’nin meme kanseri hücre hatlarında antikanser özellik gösterdiğini belirten çalışmalar mevcuttur (Riva ve ark., 2001, Garcia Gimenez ve ark., 2010). *U. tomentosa* ekstraktının, sağlıklı hayvanlara sekiz hafta uygulanmasıyla deneklerdeki lökosit sayısının arttığı rapor edilmiştir (Sheng ve ark., 2000). Ayrıca, kedi pençesi ekstraktlarının ve fraksiyonlarının, bağışıklık sistemini aktive ettiği de bildirilmiştir (Sheng ve ark., 2000, Allen-Hall ve ark., 2007). *Uncaria guianensis* ve *Uncaria tomentosa* gibi farklı fitoterapötiklerin deneysel hayvanlara uygulandığı bir çalışmada bu ajanların meme kanserinde kemopreventif ajan olarak işlev gördüğü belirtilmiştir (Budan ve ark., 2011). Santos Araujo Mdo ve ark., yaptığı bir çalışmada İnvaziv Duktal Karsinoma Evre II tanısı almış meme kanseri hastalarına günde 300 mg olarak uygulanan kurutulmuş *U. Tomentosa*’nın hastalardaki nötropeniyi azalttığı bildirilmiştir (Santos Araujo Mdo, 2012)

5.8. *Actaea racemose* (*Cimicifuga racemosa*- Black Cohosh-Karayılan Otu)

Cimicifuga racemosa olarak da bilinen Karayılan Otu, Ranunculaceae familyasına ait çiçekli bir bitkidir (Predny ve ark., 2006). *A. racemose* 42’den fazla triterpen glikozit, 11 fenolik asit ve 70’den fazla alkaloid ve tanen içerir (Chen ve ark., 2002, Shao ve ark., 2000). *A. racemose* Rizomlarındaki alkaloidler, tanenler ve flavonoidler, en çok bilinen biyoaktif bileşikleridir (Jiang ve ark., 2006).

Yapılan çalışmalarda, karayılan *A. racemose*’dan elde edilen ekstraktların, meme kanseri olan hastalarda sıcak basmalarının yanı sıra anksiyete, uykusuzluk ve diğer pre-menopozal semptomları azalttığı bildirmiştir (Vermees ve ark., 2005, Geller ve ark., 2009). *A. racemose*’ın biyolojik aktivitesi, östrojen

benzeri maddeler olan izoflavonlar ve polifenoller gibi çeşitli fitokimyasalların varlığından kaynaklanmaktadır (Nuntanakorn ve ark., 2007). Meme kanseri hastalarının tamoksifen ile tedavisinde sıklıkla sıcak basmalarına neden olduğu bilinmektedir. Tamoksifen tedavisi ile birlikte meme kanseri hastalarına *A. racemose* verilen bir çalışmada 136 meme kanseri hastasında, tamoksifenin yan etkilerinin azaldığı bildirilmiştir (Hernandez Munoz ve ark., 2003). Başka bir çalışmada tamoksifen ile tedavi edilen ve daha sonra 6 ay boyunca *A. Racemose*' dan izole edilen Remifemin'in (iki kez bir tablet (40 mg/gün)) uygulandığı 50 meme kanseri hastada ateşlenmenin azaldığı belirtilmiştir (Rostock ve ark.2011). Meme kanseri öyküsü olan 21 postmenopozal kadında Remifemin'in (4 hafta boyunca günde 20 mg'lık bir kapsül) sıcak basması üzerindeki etkisini araştırıldığı başka bir çalışmada, sıcak basması skorunda %56'lık anlamlı bir düşüş olduğu bildirilmiştir (Pockaj ve ark., 2004).

5.9. *Camellia sinensis* (Yeşil Çay)

Yeşil çay, herdem yeşil bir bitki olan *C. sinensis*'in taze yapraklarından (ısıya veya sıcak buhara maruz kalan) ve tomurcuklarından üretilir (Graham, 1992). Yeşil çay, biyoaktif polifenollerden oluşur ve toz veya sıvı formdaki özler, %45,0–90,0 polifenol ve %0,4–10,0 kafein oranlarında farklılık gösterir. Polifenoller flavonoidler, flavandioller, flavanoller ve fenolik asitlerden oluşur (Corcoran ve ark.,2012). Epigallocatechin-3-gallate (EGCG), yeşil çayda en bol bulunan polifenoldür ve sağlığa yararlı etkileri konusunda prelinik ve klinik araştırmaların odak noktası olmuştur (Rossi ve ark., 2014). Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar, çay polifenollerinin tümör hücrelerinde proliferasyonu inhibe ettiği ve apoptozu indüklediği belirtilmiştir (Zaveri, 2006, Thangapazham ve ark., 2007). Ek olarak, yeşil çayın anjiyojenez ve tümör hücresi invazyonunu inhibe etme ve bağışıklık sistemini modüle etme gibi etkileri olduğu da tespit edilmiştir (Thangapazham ve ark., 2007b).

Prelinik çalışmalar, yeşil çayın veya bileşenlerinin meme kanseri gelişiminde kemo-önleyici etkiler gösterdiğini bildirmiştir (Zhang ve ark., 2007, Zhang ve ark., 2019). Yeşil çay tüketiminin veya bileşenlerinin meme kanseri riskini azalttığıyla ilgili birçok çalışma mevcuttur (Zhang ve ark., 2019a, Zhang ve ark., 2019b). Amerika Birleşik Devletleri'nde 45.744 kadının verileri kullanarak yapılan bir çalışmada, haftada beş fincan veya daha

fazla yeşil çay içmenin meme kanseri riskindeki azalttığı bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2019b). Benzer şekilde, Güneydoğu Asya'da primer meme kanserli 1009 kadın ve hastalarla yaşları eşleştirilmiş 1009 kontrol grubundan oluşan bir çalışmada, kurutulmuş yeşil çay yapraklarının meme kanserine karşı koruma sağlandığı ve kanser olma riskinin düşürdüğü bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2007). Ayrıca evre I, II ve III meme kanseri olan 472 kadınla yapılan bir çalışmada, günde beş fincan yeşil çay tüketiminin hastalığın nüksünü azalttığı belirtilmiştir (Nakachi ve ark., 1998). Ek olarak, 1.551 meme kanseri hastası üzerinde yapılan bir çalışmada, düzenli olarak yeşil çay tüketenlerde hayatta kalma süresinin uzadığı görülmüştür (Zhang ve ark., 2019b). Yapılan başka bir çalışmada artan yeşil çay tüketimi (>3 bardak/gün) ile meme kanserinin tekrarlama riski arasında ters bir ilişki olduğu belirtilmiştir (Ogunyele ve ark., 2010).

Yeşil çay ve EGCG, güçlü anti-kanser ve antioksidan özelliklere sahip olduğu ayrıca kemoterapötik ajanlarla sinerjik etki gösterdiği birçok çalışmada tespit edilmiştir (Schroeder ve ark., 2009, Tyagi ve ark., 2015, Lewis ve ark., 2018). 5-aza-2-deoksisitidin, meme kanseri hücrelerinin anti-kanser ilaçlarına duyarlılığını artıran bir demetilasyon maddesi olduğu bilinmektedir. MCF-7 ve MDA-MB-231 insan meme kanseri hücre hatları üzerinde EGCG ve 5-aza-2-deoksisitidin kombinasyonunun, hücre proliferasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği belirtilmiştir (Tyagi ve ark., 2015). Benzer şekilde, EGCG tamoksifen ile uygulandığı MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde proliferasyonu azalttığı belirtilmiştir (Ogunyele ve ark., 2010). MCF-7, H460 ve H1975 meme kanseri hücre hatlarında EGCG ve kemoterapötik bir ilaç olan sunitinib uygulamasının, EGCG tarafından indüklenen IRS/MAPK sinyal yolunun baskılayarak tek başına ilaca göre tümörün daha fazla küçülmesine neden olduğu bildirilmiştir (Zhou ve ark., 2017).

5.10. *Panax ginseng*, *Panax japonicus* (Asya ginseng) ve *Panax quinquefolius* (Amerikan ginseng)

Ginseng türleri, yapısında birçok bileşen bulunduran Araliaceae familyasında bulunan yabani bitkilerdir. Farmakolojik açıdan en önemli aktif bileşenleri, köklerde bulunan ginsenosidler olarak bilinen triterpen saponinlerdir. Yapılan araştırmalara göre kurutulmuş köklerinde bulunan bu bileşenlerin, meme

kanseri dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinde etkili olduğu bilinmektedir (Barton ve ark., 2013, Lai ve ark., 2012).

Ginseng ekstraktının veya aktif bileşenlerinin meme kanserinde antikan- ser ajan olarak umut verici kullanımını kanıtlayan birçok *in vitro* çalışma bulunmaktadır (Kang ve ark., 2011, Kwak ve ark.,2014). Yapılan çalışmalar, ginsengte bulunan ginsenositlerin; immünomodülatör, stres ve yorgunluğa karşı ayrıca antikarsinojenik etkileri olduğunu göstermektedir. Ginseng kök- lerinin antikanser etkisi Rg3 ve Rh2 ginsenositlerinin aktivitesi ile ilgili oldu- ğu bilinmektedir. Rg3'ün, forbol ester ile indüklenmiş COX-2 ekspresyonunu ve NF-kB aktivasyonunu baskılayarak antikanser etki gösterdiği belirtilmiştir. Rh2'nin ise, ginseng ekstrelerindeki majör antikanser etki gösteren bileşik olduğu saptanmıştır. Rh2'nin MCF-7 meme kanseri hücrelerinde proliferas- yonunu azalttığı, MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanseri hücre hatlarında ise hücre döngüsünün G1 fazına etkileyerek kanser hücrelerinin canlılığını azalttığı bilinmektedir. Siyah ginsengte bulunan Rg5'in, MCF-1 meme kan- seri hücre hattında güçlü sitotoksik aktivite gösterdiği, bu etkiyi ise apoptozu birçok farklı mekanizma yolları ile indüklediği ve antitümör ilaç geliştir- mede potansiyel etkin bileşen olabileceği rapor edilmiştir (Bao ve ark., 2012, Coleman ve ark., 2003, Shin-Jung ve ark., 2015, Chung ve ark., 2016, Yong ve ark. 2006) Kwak ve ark., ginseng sapogeninleri ve türevlerinin MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerinde proliferasyonu inhibe ettiğinin belirtilmiştir (Kwak ve ark., 2014). Ginseng'in aktif bileşiklerinden biri olan ginsenoside Rg3'ün, NF- KB sinyalini bloke ederek MDA-MB 231 hücrelerinde apoptozu indüklediği bildirilmiştir (Kim ve ark.,2013, Kim ve ark.,2014). Ginsengin kanser hastalarında popüler kullanımına rağmen, ginseng-kemoterapötik ajan ilişkisi üzerine sadece birkaç klinik çalışma yapılmıştır. Tek başına ginsen- gin kullanıldığı bir klinik çalışmada, meme kanseri hastalarında immünolojik gelişmeler bildirilmiştir (Liu ve ark., 2000). Bao ve ark.(Bao ve ark., 2012) meme kanserini atlatan bireylerde, ginseng kullanımıyla meme kanseri arasın- daki ilişkiyi saptamak amacıyla yaptığı çalışmada ginseng kullanımıyla meme kanseri arasında herhangi bir ilişkinin olmadığını belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada, Ginseng kullanımının meme kanseriyle ilişkili olduğu, faklı doz- larda Ginseng kullanımının meme kanserinde tedavi amacıyla kullanılabilece- ğini bildirilmiştir (iu ve ark., 2006).

5.11. *Scutellaria barbata* (Kaside)

S. barbata, Lamiaceae familyasının bir üyesi olup kaside olarak bilinen çok yıllık bir bitkidir. *S. barbata* bitkisinden elde ekstraksiyonun bazı flavonoidler, sitotoksik aktivite gösterdiği bilinmektedir. Faz 1 meme kanseri klinik araştırmasında, *S. barbata* ekstresi oral yolla alındığında ileri derece metastatik meme kanseri olan ve kemoterapi gören kadınlarda ilacın yan etkilerini azalttığı ayrıca yükselen AST değerini düşürdüğü görülmüştür. Kemoterapik ilaçların yol açtığı diyare, yorgunluk ve ağrıya karşı, bu ekstrenin meme kanseri olan kadınlarda etkili olabileceği görülmüştür. *S. barbata* ekstresinin, hücre proliferasyonunu yavaşlatmada, ROS üretimini stimüle etmede, poli(A-DP-riboz) polimeraz (PARP) hiperaktivasyonu ve glikolizi inhibe etmede diğer alınan kemoterapötiklerle birlikte sinerjistik etki gösterdiği rapor edilmiştir (Fong ve ark., 2008, Perez ve ark., 2010, Klawitter ve ark., 2011).

5.12. *Linum usitatissimum* (Keten Tohumu)

L. usitatissimum, Keten tohumu olarak da bilinen, Linaceae familyasının bir üyesidir. Asya, Avrupa ve Akdeniz bölgesi gibi Dünya'nın çeşitli bölgelerinde yetişmektedir (Dribnenki ve ark., 2007). Keten tohumu, esansiyel yağ asitlerinin ana bitki kaynağıdır ve birçok biyoaktif bileşen içermektedir. İçerdiği bileşenler; lignanlar, magnezyum, fosfor ve kalsiyum gibi mineraller, globulinler (linin ve konlinin) gibi proteinler ve %80 ila %20 oranlarında bulunan, çözünmeyen glutelin (selüloz ve lignin) ve çözünür (müsilaj zamkları) diyet lifleri ve çözünür polisakkaritler ve vitaminler (A, C ve E)'dir (Goyal ve ark., 2014).

Chen ve ark. MCF-7 ile aşılınmış fareleri kullandıkları çalışmada keten tohumunu diyet yoluyla uygulayarak etken maddenin antitümör aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir (Chen ve ark., 2009). Meme kanseri olan farelere uygulanan *L. Usitatissimum*'un epidermal büyüme faktörü reseptörü I'in ekspresyonunu azalttığı immünohistokimyasal olarak tespit edilmiştir (Chen ve ark., 2002). Başka bir çalışmada, meme kanseri olan farelerde *L. usitatissimum*'un anjiyogenezi ve hücre büyümesini azalttığı bildirilmiştir (Bergman ve ark., 2007).

Tamoksifen, ER-pozitif olan kadınlar ve ayrıca metastatik meme kanseri için iyi bilinen bir kemoterapötiktir (Puhalla ve ark., 2009). Tamoksifen kullanan meme kanseri olan birçok insan, hatalık semptomları azaltmak ve ayrıca ilacın yan etkilerini azaltmak için fitoöstrojen açısından zengin olan *L. usitatissimum* kullanmaktadır (VandeCreek ve ark., 1999). Chen ve ark. meme kanseri yapılan farelere, *L. usitatissimum* uygulamasının tümör büyümesini %74 oranında inhibe ettiği, hem tamoksifen hem de *L. usitatissimum* uygulamasının %53'ün üzerinde tümör gerilemesine neden olduğu belirtilmiştir (Chen ve ark. 2014). Aynı araştırma grubu tarafından yapılan başka bir çalışmada, farelerin tamoksifen ve *L. usitatissimum* kombinasyonu ile uzun süreli tedavisi sonucunda apoptozun indüklendiği ve hücre çoğalmasının inhibisyonuyla tümör boyutunu %55 oranında azalttığı bildirilmiştir (Chen ve ark.,2007).

Yapılan klinik çalışmalara göre *L. usitatissimum* tüketiminin meme kanseri riskini azalttığı bilinmektedir. Bu konuda 2.999 meme kanseri vakası ve 3.370 sağlıklı insan üzerinde yapılan bir çalışmada *L. usitatissimum* tüketiminin meme kanseri riskini azalttığı bildirilmiştir (Lowcock ve ark., 2013). Fower ve arkadaşları tarafından yapılan klinik bir çalışmada, meme kanseri hastalarına günlük olarak *L. usitatissimum* uygulandığında hücre proliferasyonunun inhibe edildiği bildirilmiştir (Fower ve ark.,2013).

5.13.Salvia Türleri (*Salvia bracteata*, *Salvia rubifolia*, *S. Syriaca*, *S. fruticosa* ve *S. horminum*)

Salvia, Labiatae familyasının en büyük ve farmakolojik açıdan en önemli cinsidir. Bu cins, yabani olarak büyüyen veya yetiştirilen *Salvia bracteata* ve *Salvia rubifolia* tıbbi açıdan değerli türleri ve süs bitkilerini içerir. *Salvia* türleri biyoaktif içerik olarak oldukça zengindir (flavonoidler, diterpenoidler, uçucu yağlar, tanenler vb). Bu biyoaktif bileşenlerinin birçok farmokolojik özelliği bulunmaktadır (Gören ve ark., 2006).

Salvia cinsine ait üç türün (*S. syriaca*, *S. fruticosa* ve *S. horminum*) etanol ekstraktının, östrojen reseptörü pozitif meme kanseri hücre hatlarında antiproliferatif aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Abu-Dahab ve ark. 2013). *S. triloba* ve *S. dominika* etanol ekstraktlarının, proapoptotik sitotoksik meka-

nizmalar yoluyla MCF-7 meme kanseri hücre hattında ve insan duktal meme epitel tümör hücre hattı (T47D) üzerinde antiproliferatif etki gösterdiği belirtilmiştir (Abu-Dahab ve ark., 2015). *S. miltiorrhiza*'nın MCF-7 meme hücre hattının proliferasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir. Ayrıca p27 seviyesini düşürerek hücre döngüsünün G1 fazında gecikmesine neden olduğu belirtilmiştir (Yang ve ark., 2010). Danshen (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) ekstraktlarından izole edilen diterpen kinon ve tanshinone (I, IIA ve IIB), kriptomanshinone, isocryptotanshinone, miltirone, tanshinol (I ve II) ve salviol gibi fenolik asit türevleri izole edilmiştir (Wang ve ark., 2004, Wang ve ark., 2015). Bu bileşiklerin antioksidan olduğu ve lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağladığı bilinmektedir. Danshen'den izole edilen bu bileşiklerin, çeşitli meme kanseri hücre hatlarında sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir. ER-pozitif insan kanser meme kanseri hücrelerinde sitotoksik etki gösterdiği belirtilmiştir (Nizamutdinova ve ark., 2008, Wang ve ark., 2015, Gong ve ark., 2012, Nicolin ve ark., 2014). Başka bir çalışmada, doksorubisin verilen meme kanseri hücrelerine, tanshinol II A uygulamasının, hipoksi kaynaklı faktör 1 *a* ekspresyonunu azaltarak meme kanseri hücrelerinin direncini azalttığı belirtilmiştir (Fu ve ark., 2014). Danshen'dan izole edilen neotanshin lactone'un meme kanseri tedavisinde kullanılan tamoxifen citrate'tan daha fazla sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir (Wang ve ark., 2004). *In vivo* olarak yapılan bir çalışmada meme kanseri olan farelere Danshen' den izole edilen tanshinon II A bileşiği enjekte edilmiştir. Bu bileşiğin denklede antikanser aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Wang ve ark., 2005). Kemoterapi sürecinde paclitaxel kullanan meme kanseri hastalarına *S. miltiorrhiza*'dan izole edilen salvianolic acid A uygulanarak hastaların paclitaxel'e karşı duyarlılığının arttığı belirtilmiştir (Cai ve ark. 2014). Yapılan bir klinik çalışmada; *C. versicolor* ve *S. miltiorrhiza* kombine olarak meme kanseri hastalarına uygulanmıştır. 6 ay sonra hastaların T-yardımcı lenfosit ve B-lenfosit sayısının arttığı belirtilmiştir (Wong ve ark., 2005).

5.14. *Arctium lappa* (Dulavrat Otu)

A. lappa Asteraceae familyasında yer alan ve Dulavrat otu olarak bilinen çok yıllık otsu bir bitkidir. Yapısında Tannin, arctigenin, arctiin, beta-eudesmol, caffeic asit, klorojenik asit, sitosterol- glukopiranozit, lappaol gibi biyo-

aktif moleküller içermektedir (Chan ve arkadaşları, 2011)

A. lappa'nın meme kanserinde antitümör aktivite gösterdiğini bildiren birçok çalışma bulunmaktadır. Lou ve ark. *Arctium lappa* kaynaklı *Arctigenin*'in MDA-MB-231 göğüs kanseri hücrelerinde tümör invazyonu ve migrasyonu üzerindeki etkilerini incelediği bir çalışmada *Arctigenin*'in, meme kanseri hücrelerinin metastazını inhibe ettiği bildirilmiştir (Lou ve ark., 2017). Yapılan başka bir çalışmada, *A. lappa* kaynaklı *arctigenin*'in apoptozu indükleyerek MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinin hücre büyümesini inhibe ettiği belirtilmiştir (Hsieh ve ark., 2014). Ghafari ve ark., yaptığı çalışmada doksorubisin ve *A. Lappa*'nın anti-proliferatif etkileri MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatlarında değerlendirilmiştir. *A. Lappa*'nın köklerinden elde edilen ekstrakt ile doksorubisinin kombine edilerek iki hücre hattında da apoptozu indüklediği bildirilmiştir (Ghafari ve ark., 2017).

5.15. *Vernonia amygdalina*

Afrika yetişen Asteraceae familyasından olan yenilebilir bir bitkidir. İçeriğinde yüksek alkaloid, saponin ve tanen grubu bileşikler bulunmaktadır. Afrika geleneksel tıbbında sindirim stimülanı, ateş düşürücü olarak kullanılmaktadır. *V. Amygdalina*'dan elde edilen ekstrenin MCF-7 hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği bilinmektedir. *V. amygdalina* elde edilen fraksiyonların MKL-F meme kanseri hücre hatlarının büyümesini inhibe ettiği belirtilmiştir (Oyugi ve ark., 2009, Yedjou ve ark., 2008).

5.16. *Withania somnifera* (Morsalkım)

Asya geleneksel tıbbında 3000 yıldır bilinen ve kullanılan tıbbi bitkidir. *W. somnifera*'da, teroidal lakton triterpenoit yapısında withanolidler bulunmaktadır. 13 withanolid bileşiği MCF-7 hücre hatlarında antioksidan ve siklooksijenaz enzim inhibitörü aktiviteleri açısından değerlendirilmiş ve etkili olduğu bildirilmiştir (Jayaprakasa ve ark., 2003, Ali-Shtayeh ve ark., 2000).

SONUÇ

Meme kanseri dünya genelinde kadınlar arasında en çok görülen kanser türüdür. Günümüzde meme kanserinin tedavisinde; kemoterapi, radyoterapi, cerrahi, hormonoterapi, hedef tedavi ve immunoterapi gibi yöntemler kullanılmaktadır. Tercih edilen tedavi yöntemi, hastanın kanser evresine göre yapılmakta ve söz konusu tedavi yöntemi bazı yan etkilere yol açarak hastanın yaşam kalitesini etkilemektedir. Bu yan etkiler alopesi, diyare, bulantı-kusma, konstipasyon, mukozit, nötropeni ve yorgunluk olarak bilinmektedir. Fitoterapi yöntemleri modern tedavilerin yol açtığı yan etkilerin önüne geçebilmek amacıyla hastalar tarafından tercih edilmektedir.

Bitkisel ürünleri doğal olması sebebiyle istenmeyen etkilere yol açmadığını düşünmek tam olarak doğru görülmemektedir. Fitoterapik tedaviler potansiyel faydalar göstermesine rağmen her durumda tamamen doğal ve güvenli değildir (Jones ve ark., 2019). Bitkisel ürünler doğal kaynaklardan gelse de, içerdikleri biyoaktif bileşenler, ilaç metabolize eden enzimlerin veya taşıyıcıların indüksiyonu veya inhibisyonu yoluyla istenmeyen etkileşimlere yol açabilmektedir (Nanjappan ve ark., 2018). Fitoterapötiklerin kanserde kullanımı ile ilgili büyük randomize kontrollü çalışmalar ile desteklenmiş yeterli kanıtlar mevcut değildir. Kullanılan birçok bitkinin biyoaktif bileşenleri ve organizmadaki etkisi tam olarak bilinmemektedir. Mevcut çalışmaların çoğunluğu retrospektif niteliktedir. Bitkisel kaynak doğaldır zararsızdır veya bitkisel ise etkisizdir düşüncesi oldukça yanlıştır. Bitkilerin de kimyasal bileşenler içerdiği unutulmamalıdır. Bitkisel tedavilerde doğru bitkinin, doğru endikasyonda ve doğru dozda kullanılması da oldukça önemlidir.

KAYNAKÇA

- Abu-Dahab, R.; Afifi, F.; Kasabri, V.; Majdalawi, L.; Naffa, R. "Comparison of the antiproliferative activity of crude ethanol extracts of nine salvia species grown in Jordan against breast cancer cell line models," *Pharmacognosy Magazine*, vol. 8, no. 32, pp. 319–324, 2012.
- Abu-Dahab, R.; Abdallah, M. R.; Kasabri, V.; Mhaidat, N. M.; Afifi, F. U. "Mec-

- hanistic studies of antiproliferative effects of salvia triloba and salvia dominica (Lamiaceae) on breast cancer cell lines (MCF7 and T47D),” *Zeitschrift fur Naturforschung* , vol. 69c, pp. 443–451, 2015.
- Ahmad, A.; Mishra, R.K.; Vyawahare, A.; Kumar, A.; Rehman, M.U.; Qamar, W.; Khan, A.Q.; Khan, R. Thymoquinone (2-Isoprpyl-5-methyl-1, 4-benzoquinone) as a chemo-preventive/anticancer agent: Chemistry and biological effects. *Saudi Pharm. J.* 27, 1113–1126,2019.
- Ahmadiankia, N. Molecular targets of pomegranate (*Punica granatum*) in preventing cancer metastasis. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 22(9),2019.
- Akim, A., Ling, LC., Rahmat, A., Zakaria, ZA. Antioxidant and anti-proliferative activities of roselle juice on Caov-3, MCF-7, MDA-MB-231 and HeLa cancer cell lines, *African Journal of Pharmacy and Pharmacolgy*, Vol., 5 (7), 957-965, 2011.
- Akkoç, Y.; Berrak, Ö.; Arısan, E.D.; Obakan, P.; Çoker-Gürkan, A.; Palavan-Ünsal, N. Inhibition of PI3K signaling triggered apoptotic potential of curcumin which is hindered by Bcl2 through activation of autophagy in MCF-7 cells. *Biomed. Pharmacother.*,71, 161–171,2015.
- Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff M.; Roberts, K.; Walter, P. *Molecular biology of the cell*. 4th ed. New York: Garland Science. p.105,2002.
- Algier, LA.; Hanoglu, Z.; Ozden, G.; Kara, F. The use of complementary and alternative (non-conventional) medicine in cancer patients in Turkey. *Eur J Oncol Nurs* 9:138-46, 2005.
- Ali-Shtayeh, M.S.; Yaniv, Z.; Mahajna, J. Ethnobotanical survey in the Palestinian area: a classification of the healing potential of medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 73, 221-232,2000.
- Alhazmi, M.I.; Hasan, T.N.; Shafi, G.; Al-Assaf, A.H.; Alfawaz, M.A.; Alshatwi, A.A. Roles of p53 and caspases in induction of apoptosis in MCF-7 breast cancer cells treated with a methanolic extract of *Nigella sativa* seeds. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 15, 9655–9660, 2014.
- Ali, B.H.; Blunden, G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother. Res.*, 17, 299–305, 2003.
- Al-Jassir, M.S.; Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds growing in Saudi Arabia. *Food Chem.*, 45, 239–242,1992.
- Allen-Hall, L.; Cano, P.; Arnason, J. T.; Rojas, R.; Lock, O. “Treatment of THP-1 cells with *Uncaria tomentosa* extracts differentially regulates the expression if IL-1- and TNF- -,” *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 109, no. 2, pp. 312–317, 2007.
- Amagase, H. Clarifying the real bioactive constituents of garlic. *J. Nutr.* 136, 716S–725S,2006.
- Amalraj, A.; Pius, A.; Gopi, S.; Gopi, S. Biological activities of curcuminoids, other

- biomolecules from turmeric and their derivatives. *J. Tradit. Complement. Med.*, 7, 205–233, 2017.
- Aydiner, A.; Topuz, E. (2006). *Meme Kanseri Tanı, Tedavi, Takip*. İstanbul Konsensusu. Nobel Tıp Kitapevi.
- Bagul, M.; Kakumanu, S.; Wilson, T.A. Crude garlic extract inhibits cell proliferation and induces cell cycle arrest and apoptosis of cancer cells in vitro. *J. Med. Food*, 18, 731–737, 2015.
- Baharetha, H.M.; Nassar, Z.D.; Aisha, A.F.; Ahamed, M.B.; Al-Suede, F.S.; Abd Kadir, M.O.; Ismail, Z.; Majid, A.M. Proapoptotic and antimetastatic properties of supercritical CO₂ extract of *Nigella sativa* Linn. against breast cancer cells. *J. Med. Food*, 16, 1121–1130, 2013.
- Bao, P.P.; Lu, W.; Cui, Y. Ginseng and *Ganoderma lucidum* use after breast cancer diagnosis and quality of life: a report from the Shanghai Breast Cancer Survival Study, *PLoS One*, 7(6), e39343, 2012.
- Barton, D. L.; Liu, H.; Dakhil, S. R. “Wisconsin Ginseng (*Panax quinquefolius*) to improve cancer-related fatigue: a randomized, double-blind trial, N07C2,” *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 105, no. 16, pp. 1230–1238, 2013.
- Bashmail, H.A.; Alamoudi, A.A.; Noorwali, A.; Hegazy, G.A.; Ajabnoor, G.M.; Al-Abd, A.M. Thymoquinone enhances paclitaxel anti-breast cancer activity via inhibiting tumor-associated stem cells despite apparent mathematical antagonism. *Molecules*, 25, 426, 2020.
- Bayet-Robert M.; Morvan, D. Metabolomics reveals metabolic targets and biphasic responses in breast cancer cells treated by curcumin alone and in association with docetaxel. *PLoS ONE*, 8, e57971, 2013.
- Bergman, J.M.; Thompson, L.U.; Dabrosin, C. Flaxseed and its lignans inhibit estradiol-induced growth, angiogenesis, and secretion of vascular endothelial growth factor in human breast cancer xenografts in vivo. *Clin. Cancer Res.*, 13, 1061–1067, 2007.
- Beuth, J.; Ko, H. L.; Schneider, H.; “Intratumoural application of standardized mistletoe extracts down regulates tumour weight via decreased cell proliferation, increased apoptosis and necrosis in a murine model,” *Anticancer Research*, vol. 26, no. 6B, pp. 4451–4456, 2006.
- Block, E. *Garlic and Other Alliums: The Lore and the Science*; Royal Society of Chemistry: London, UK, 2010.
- Budan, F.; Szabo, I.; Varjas T. “Mixtures of *Uncaria* and *Tabebuia* extracts are potentially chemopreventive in CBA/Ca mice: A long-term experiment,” *Phytotherapy Research*, vol. 25, no. 4, pp. 493–500, 2011.
- Bussing, A.; Bruckner, U.; Enser-Weis, U. “Modulation of” chemotherapy-associated

- immunosuppression by intravenous application of *Viscum album* L. extract (Is-cador): a randomised phase II study,” *European Journal of Integrative Medicine*, vol. 1, pp. 2-3, 2008.
- Cai, J.; Chen, S.; Zhang, W. “Salvianolic acid A reverses paclitaxel resistance in human breast cancer MCF-7 cells via targeting the expression of transgelin 2 and attenuating PI3 K/Akt pathway,” *Phytomedicine*, vol. 21, no. 12, pp. 1725–1732, 2014.
- Chen, J.; Hui, E.; Ip, T.; Thompson, L.U. Dietary flaxseed enhances the inhibitory effect of tamoxifen on the growth of estrogen-dependent human breast cancer (mcf-7) in nude mice. *Clin. Cancer Res.* 10, 7703–7711,2004.
- Chen, J.; Power, K.; Mann, J.; Cheng, A.; Thompson, L.U. Dietary flaxseed interaction with tamoxifen induced tumor regression in athymic mice with MCF-7 xenografts by downregulating the expression of estrogen related gene products and signal transduction pathways. *Nutr. Cancer*, 58, 162–170, 2007.
- Chen, J.; Stavro, P.M.; Thompson, L.U. Dietary flaxseed inhibits human breast cancer growth and metastasis and downregulates expression of insulin-like growth factor and epidermal growth factor receptor. *Nutr. Cancer*, 43, 187–192, 2002.
- Chen, S.N.; Li, W.K.; Fabricant, D.S.; Santarsiero, B.D.; Mesecar, A.; Fitzloff, J.F.; Fong, H.S.; Farnsworth, N.R. Isolation, structure elucidation, and absolute configuration of 26-deoxyactein from *Cimicifuga racemosa* and clarification of nomenclature associated with 27-deoxyactein. *J. Nat. Prod.*, 65, 601–605, 2002.
- Chung,A.-S.; Park, K.M. Anticancer and Antineurodegenerative effects of Ginsenosides, from *Studies in Natutal Products Chemistr*, edt. Atta-ur Rahman, vol 50, 4,2016.
- Coker-Gurkan, A.; Bulut, D.; Genc, R.; Arisan, E.D.; Obakan-Yerlikaya, P.; Palavan-Unsal, N. Curcumin prevented human autocrine growth hormone (GH) signaling mediated NF- κ B activation and miR-183-96-182 cluster stimulated epithelial mesenchymal transition in T47D breast cancer cells. *Mol. Biol. Rep.*, 46, 355–369,2019.
- Coker-Gurkan, A.; Celik, M.; Ugur, M.; Arisan, E.D.; Obakan-Yerlikaya, P.; Durdu, Z.B.; Palavan-Unsal, N. Curcumin inhibits autocrine growth hormone-mediated invasion and metastasis by targeting NF- κ B signaling and polyamine metabolism in breast cancer cells. *Amino Acids*, 50, 1045–1069,2018.
- Coleman, C. I.; Hebert, J. H.; Reddy, P. The effects of *Panax ginseng* on quality of life, *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 28, 1, 5-15,2003.
- Corcoran, M.P.; McKay, D.L.; Blumberg, J.B. Flavonoid basics: Chemistry, sources, mechanisms of action, and safety. *J. Nutr. Gerontol. Geriatr.*, 31, 176–189, 2012.
- Cordosa, F. Kyriakides; Early Breast Cancer: ESMO Clinical Practice Guideline For

- Diagnosis, Treatment And Follow-Up. *Annals Of Oncology* 30: 1194–1220,2019.
- Dahanukar, S.A.; Thatte, U.M. Current status of ayurveda in phytomedicine. *Phyto-medicine*, 4, 359-368, 1997.
- Dastjerdi, M.N.; Mehdiabady, E.M.; Iranpour, F.G.; Bahramian, H. Effect of thymoquinone on P53 gene expression and consequence apoptosis in breast cancer cell line. *Int. J. Prev. Med.*, 7, 66.2016.
- Desai, G.; Schelske-Santos, M.; Nazario, C.M.; Rosario-Rosado, R.V.; Mansilla-Rivera, I.; Ramirez-Marrero, F.; Nie, J.; Myneni, A.A.; Zhang, Z.F.; Freudenheim, J.L.; et al. Onion and garlic intake and breast cancer, a case-control study in Puerto Rico. *Nutr. Cancer*. 12, 1–10, 2019.
- Dikmen, M.; Öztürk, N.; Öztürk, Y. Nar Meyve Kabuğu Ekstresinin MCF-7 Hücre Proliferasyonu Üzerine Sitotoksik Ve İnhibitör Etkileri. *J. Fac. Pharm*, 37 (3) 179 - 190, 2008.
- Dilshad, A.; Abulkhair, O.; Nemenqani, D.; Tamimi, W. Antiproliferative properties of methanolic extract of *Nigella sativa* against the MDA-MB-231 cancer cell line. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*,13, 5839–5842, 2012.
- Dribnenki, J.C.P.; McEachern, S.F.; Chen, Y.; Green, A.G.; Rashid, K.Y. 2149 Solin (low linolenic flax). *Can. J. Plant Sci.*, 87, 297–299,2007.
- Eisenbraun, J.; Scheer, R.; Kroz, M.; Schad, F. “Quality of life in breast cancer patients during chemotherapy and concurrent therapy with a mistletoe extract,” *Phytomedicine*, vol. 18, no. 2-3, pp. 151–157, 2011.
- Farrar, A.J., & Farrar, F.C. (2020). *Clinical Aromatherapy*. *Nurs Clin North Am*, 55(4), 489-504. doi: 10.1016/j.cnur.2020.06.015.
- Fong, S., Shoemaker, M.; Cadaoas, J. Molecular mechanisms underlying selective cytotoxic activity of BZL101, an extract of *Scutellaria barbata*, towards breast cancer cells. *Cancer Biology and Therapy*, 7(4), 577-586,2008.
- Fu, P.; Du, F.; Chen, W.; Yao, M.; Liu, Y. “Tanshinone IIA blocks epithelial-mesenchymal transition through HIF1- downregulation, reversing hypoxia-induced chemotherapy resistance in breast cancer cell lines,” *Oncology Reports*, vol. 31, no. 6, pp. 2561–2568, 2014.
- Ganji-Harsini, S.; Khazaei, M.; Rashidi, Z.; Ghanbari, A. Thymoquinone could increase the efficacy of tamoxifen induced apoptosis in human breast cancer cells: An in vitro study. *Cell J.*, 18, 245–254,2016.
- Garcia Gimenez, D.; Garcia Prado, E.; Saenz Rodriguez, T.; Fernandez Arche, A.; De La Puerta, R. “Cytotoxic effect of the pentacyclic oxindole alkaloid mitraphylline isolated from *Uncaria tomentosa* bark on human ewing’s sarcoma and breast cancer cell lines,” *Planta Medica*, vol. 76, no. 2, pp. 133–136, 2010.
- Gardin, N. E. “Immunological response to mistletoe (*Viscum album* L.) in cancer

- patients: a four-case series,” *Phytotherapy Research*, vol. 23, no. 3, pp. 407–411, 2009.
- Geller, S.E.; Shulman, L.P.; van Breemen, R.B.; Banuvar, S.; Zhou, Y.; Epstein, G.; Hedayat, S.; Nikolic, D.; Krause, E.C.; Piersen, C.E.; et al. Safety and efficacy of black cohosh and red clover for the management of vasomotor symptoms: A randomized controlled trial. *Menopause (New York, N.Y.)*, 16, 1156–1166, 2009.
- Ghafari, F.; Rajabi, M.R.; Mazoochi, T.; Taghizadeh, M.; Nikzad, H.; Atlasi, M.A.; Taherian, A. Comparing apoptosis and necrosis effects of *Arctium Lappa* root extract and doxorubicin on MCF7 and MDA-MB-231 cell lines. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 18, 795–802, 2017.
- Ghazanfari, T.; Yaraee, R.; Rahmati, B.; Hakimzadeh, H.; Shams, J.; Jalali-Nadoushan, M.R. In vitro cytotoxic effect of garlic extract on malignant and nonmalignant cell lines. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, 33, 603–608, 2011.
- Ghosh, D. Seed to patient in clinically proven natural medicines in nutraceuticals. *Efficacy, Safety And Toxicity*. Elsevier Inc., pp. 925–931, 2016.
- Gong, Y.; Li, Y.; Abdolmaleky, H. M.; Li, L.; Zhou, J.R.; “Tanshinones inhibit the growth of breast cancer cells through epigenetic modification of aurora a expression and function,” *PLoS ONE*, vol. 7, no. 4, Article ID e33656, 2012.
- Goren, A. C.; Kilic, T.; Dirmenci, T.; Bilsel, G.; “Chemotaxonomic evaluation of Turkish species of *Salvia*: Fatty acid compositions of seed oils,” *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 34, no. 2, pp. 160-164, 2006.
- Goyal, A.; Sharma, V.; Upadhyay, N.; Gill, S.; Sihag, M. Flax and flaxseed oil: An ancient medicine modern functional food. *J. Food Sci. Technol.*, 51, 1633–1653, 2014.
- Graham, H.N. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev. Med.*, 21, 334–350, 1992.
- Guan, F.; Ding, Y.; Zhang, Y.; Zhou, Y.; Li, M.; Wang, C. Curcumin suppresses proliferation and migration of MDA-MB-231 breast cancer cells through autophagy-dependent Akt degradation. *PLoS ONE* 11, e0146553, 2016.
- Hajto, T.; Hostanska, K.; Fischer, J.; Saller, R. “Immunomodulatory effects of *Viscum album* agglutinin-I on natural immunity,” *Anti-Cancer Drugs*, vol. 8, no. 1, pp. S43–S46, 1997.
- Harada, T.; Kurahashi, W.; Yanai, M.; Wakasa, Y.; Satoh, T. Involvement of cell proliferation and cell enlargement in increasing the fruit size of *Malus* species, *Scientia Horticulturae*, 105, 447-456, 2005.
- Harmsma, M.; Ummelen, M.; Dignef, W.; Tussenius, K. J.; Ramaekers, F. C. S. “Effects of mistletoe (*Viscum album* L.) extracts Iscador on cell cycle and survival of tumour cells,” *Arzneimittelforschung*, vol. 56, no. 6A, pp. 474–482, 2006.

- Hirsch, K.; Danilenko, M.; Giat, J.; Miron, T.; Rabinkov, A.; Wilchek, M.; Mirelman, J.; Levy, J.; Sharoni, Y. Effect of purified allicin, the major ingredient of freshly crushed garlic, on cancer cell proliferation. *Nutr. Cancer*, 38, 245–254, 2000.
- Hong, C.E.; Park, A.K.; Lyu, S.Y. “Synergistic anticancer effects of lectin and doxorubicin in breast cancer cells,” *Molecular and Cellular Biochemistry*, vol. 394, no. 1-2, pp. 225–235, 2014.
- Huang, W.; Wang, Y.; Jiang, X.; Sun, Y.; Zhano, Z.; Li, S. Protective effect of flavonoids from *Ziziphus jujuba* cv. *Jinsixiaozao* against acetaminophen-induced liver injury by inhibiting oxidative stress and inflammation in mice. *Molecules*, 22(10):1781,2017.
- Hsieh, C.; Kuo, P.; Hsu, Y.; Huang, Y.; Tsai, E.; Hsu, Y. Arctigenin, a dietary phytoestrogen, induces apoptosis of estrogen receptor-negative breast cancer cells through the ROS/p38 MAPK pathway and epigenetic regulation. *Free Radic. Biol. Med.*, 67, 159–170, 2014.
- Imran, M.; Rauf, A.; Khan, I.A.; Khan, I.A.; Shahbaz, M.; Qaisrani, T.B.; Fatmawati, S.; Abu-Izneid, T.; Imran, A.; Rahman, K.U.; et al. Thymoquinone: A novel strategy to combat cancer: A review. *Biomed. Pharmacother.*, 106, 390–402, 2018.
- Jayaprakasam, B.; Zhang, Y.; Seeram, N.; Nair, M. Growth inhibition of human tumor cell lines by withanolides from *Withania somnifera* leaves. *Life Sciences* 74,1, 125- 132.2003.
- Jeune, M.A.; Kumi-Diaka, J.; Brown, J. “Anticancer activities of pomegranate extracts and genistein in human breast cancer cells” *J Med Food.*, 8(4),469-75,2005.
- Jiang, B.; Kronenberg, F.; Nuntanakorn, P.; Qiu, M.H.; Kennelly, E.J. Evaluation of the botanical authenticity and phytochemical profile of black cohosh products by high-performance liquid chromatography with selected ion monitoring liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 3242–3253, 2006.
- Jones, E., Nissen, L., McCarthy, A., Steadman, K., Windsor, C; Exploring the use of complementary and alternative medicine in cancer patients. *Integrative cancer therapies*, 18, p. 153473541984698, 2019.
- Kwak, J. H.; Park, J. Y.; Lee, D. “Inhibitory effects of ginseng saponins on the proliferation of triple negative breast cancer MDA-MB-231 cells,” *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, vol. 24, no. 23, pp. 5409–5412, 2014.
- Kabil, N.; Bayraktar, R.; Kahraman, N.; Mokhlis, H.A.; Calin, G.A.; Lopez-Berestein, G.; Ozpolat, B. Thymoquinone inhibits cell proliferation, migration, and invasion by regulating the elongation factor 2 kinase (eEF-2K) signaling axis in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.*, 171, 593–605,2018.
- Kaur, V.; Kumar, M.; Kumar, A. Pharmacotherapeutic potential of phytochemicals: Implications in cancer chemoprevention and future perspectives. *Biomed Phar-*

- macother, 97:564-586, 2018.
- Keleş, H. Changes of some horticultural characteristics in jujube (*Ziziphus jujube* Mill.) fruit at different ripening stages. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 44: 391-398,2020.
- Kelter, G.; Schierholz, J. M.; Fischer, I. U.; Fiebig, H. H. "Cytotoxic activity and absence of tumour growth stimulation of standardized mistletoe extracts in human tumour models in vitro," *Anticancer Research*, vol. 1A, pp. 223–233, 2007.
- Khan, A.; Aldebasi, Y.H.; Alsuhaibani, S.A.; Khan, M.A. Thymoquinone augments cyclophosphamide-mediated inhibition of cell proliferation in breast cancer cells. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 20, 1153–1160. 2019.
- Khan, M.A.; Tania, M.; Wei, C.; Mei, Z.; Fu, S.; Cheng, J.; Xu, J.; Fu, J. Thymoquinone inhibits cancer metastasis by downregulating TWIST1 expression to reduce epithelial to mesenchymal transition. *Oncotarget*, 6, 19580–19591, 2015.
- Kim, B.; Kim, D.; Park, J.; Surh, Y; Na, H. "Ginsenoside Rg3 inhibits constitutive activation of NF-kappaB signaling in human breast cancer (MDA-MB-231) cells: ERK and Akt as potential upstream targets," *Journal of Cancer Prevention*, vol. 19, no. 1, pp. 23–30, 2014.
- Kim, B. M.; Kim, D.; Park, J.; Na, H.; Surh, Y. "Ginsenoside Rg3 Induces apoptosis of human breast cancer (MDA-MB-231) cells," *Journal of Cancer Prevention*, vol. 18, no. 2, pp. 177–185, 2013.
- Klawitter, J.; Klawitter, J.; Gurshtein, J. Bezielle (BZL101)- induced oxidative stress damage followed by redistribution of metabolic fluxes in breast cancer cells: a combined proteomic and metabolomic study, *International Journal of Cancer*, 129, 12, 2945-2957,201).
- Knowles, L.M.; Milner, J.A. Possible mechanism by which allyl sulfides suppress neoplastic cell proliferation. *J. Nutr.* 131, 1061S–1066S, 2001.
- Korak, T.; Ergül, E.; Sazci, A. *Nigella sativa* and cancer: A review focusing on breast cancer, inhibition of metastasis and enhancement of natural killer cell cytotoxicity. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2020.
- Kurt, S.; Unsar, S. Assessment of symptom control in patients with cancer in Northwestern Turkey. *European Journal of Oncology Nursing* 15 (2), 137-144, 2011.
- Kuzu, A., 2015a. *Bilim Adamlarımız Serisi: Biruni*. Parola Yayınları, 1. Baskı, ISBN: 9786059121255.
- Kuzu, A., 2015b. *Bilim Adamlarımız Serisi: İbni Sina*. Parola Yayınları, 1. Baskı, ISBN: 9786059121286.
- Lansky, E.P.; Harrison, G.; Froom, P.; Jiang, W.G. Pomegranate (*Punica granatum*) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel. *Invest New Drugs*, 23(2), 121-2,2005. doi:

10.1007/s10637-005-5856-7

- Li, X.; Xie, W.; Xie, C.; Huang, C.; Zhu, J.; Liang, Z.; Deng, F.; Zhu, M.; Zhu, W.; Wu, R.; et al. Curcumin modulates miR-19/PTEN/AKT/p53 axis to suppress bisphenol A-induced MCF-7 breast cancer cell proliferation. *Phytother. Res.* 28, 1553–1560, 2014.
- Liang, P., Guo, J., Li, S., Guan, Q., Vanderheyden, T., So, A., Wang, Y., Chen, T., Du, C; Prevention of prostate tumor development by stimulation of antitumor immunity using a standardized herbal extract (Deep Immune) in TRAMP Mice. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2018, 1-12, 2018
- Lai, J.N.; Wu, C.-T.; Wang, J.-D. “Prescription pattern of Chinese herbal products for breast cancer in Taiwan: apopulation-based study,” *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2012, Article ID 891893, 7 pages, 2012.
- Liao G, Apaya M, Shyur L; *Herbal Medicine and Acupuncture for Breast Cancer Palliative Care and Adjuvant Therapy*. Hindawi Publishing, 437, 17-23, 2013.
- Linjawi, S.A.; Khalil, W.K.; Hassanane, M.M.; Ahmed, E.S. Evaluation of the protective effect of *Nigella sativa* extract and its primary active component thymoquinone against DMBA-induced breast cancer in female rats. *Arch. Med. Sci.*, 11, 220–229, 2015.
- Lou, C.; Zhu, Z.; Zhao, Y.; Zhu, R.; Zhao, H. Arctigenin, a lignan from *Arctium lappa* L., inhibits metastasis of human breast cancer cells through the downregulation of MMP-2/-9 and heparanase in MDA-MB-231 cells. *Oncol. Rep.* 37, 179–184, 2017.
- Lowcock, E.C.; Cotterchio, M.; Boucher, B.A. Consumption of flaxseed, a rich source of lignans, is associated with reduced breast cancer risk. *Cancer Causes Control*, 24, 813–816, 2013.
- Malki, A.; El-Saadani, M.; Sultan, A.S. Garlic constituent diallyl trisulfide induced apoptosis in MCF7 human breast cancer cells. *Cancer Biol. Ther.*, 8, 2175–2185, 2009.
- Miller, K.D.; Siegel, R.L.; Lin, C.C. Cancer treatment and survivorship statistics, *CA Cancer J Clin.* 66:271-289, 2016.
- Modem, S.; Dicarolo, S.E.; Reddy, T.R. Fresh garlic extract induces growth arrest and morphological differentiation of MCF7 breast cancer cells. *Genes Cancer*, 3, 177–186, 2012.
- Motaghed, M.; Al-Hassan, F.M.; Hamid, S.S. Cellular responses with thymoquinone treatment in human breast cancer cell line MCF-7. *Pharmacogn. Res.*, 5, 200–206, 2013
- Nakachi, K.; Suemasu, K.; Suga, K.; Takeo, T.; Imai, K.; Higashi, Y. Influence of drinking green tea on breast cancer malignancy among Japanese patients. *Jpn. J. Cancer Res. Gann*, 89, 254–261, 1998.

- Nanjappan, S.; Paul, D.; Bolla, L. Assessing herb–drug interactions of herbal products with therapeutic agents for metabolic diseases: analytical and regulatory perspectives. *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier B.V., pp. 283–322,2018.
- Nickavar, B.; Mojab, F.; Javidnia, K.; Amoli, M.A. Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Z. Naturforschung*,58, 629–631,2003.
- Nicolin, V.; Fancellu, G.; Valentini, R.; “Effect of tanshinone II on cell growth of breast cancer cell line type MCF-7 and MDMB-231,” *Italian Journal of Anatomy and Embryology*, vol. 119, no. 1, pp. 38–43, 2014.
- Nizamutdinova, I. T.; Lee, G. W.; Son K. H. “Tanshinone I effectively induces apoptosis in estrogen receptor-positive (MCF-7) and estrogen receptor-negative (MDA-MB-231) breast cancer cells,” *International Journal of Oncology*, vol. 33, no. 3, pp. 485–491, 2008.
- Nuntanakorn, P.; Jiang, B.; Yang, H.; Cervantes-Cervantes, M.; Kronenberg, F.; Kennelly, E.J. Analysis of polyphenolic compounds and radical scavenging activity of four American *Actaea* species. *Phytochem. Anal.*, 18, 219–228,2007.
- Ogunleye, A.A.; Xue, F.; Michels, K.B. Green tea consumption and breast cancer risk or recurrence: A meta-analysis. *Breast Cancer Res. Treat.*, 119, 477–484, 2010.
- Omar, S.H.; Al-Wabel, N.A. Organosulfur compounds and possible mechanism of garlic in cancer. *Saudi Pharm. J.*, 18, 51–58, 2010.
- Oyugi, D.A.; Luo, X.; Lee, K.S.; Hill, B.; Izevbigie, E.B. Activity markers of the breast carcinoma cell growth fractions of *Vernonia amygdalina* extracts. *Experimental Biology and Medicine*, 234(4), 410–417,2009.
- Ozlem ER, Mistik S, Ozkan M, Ozturk A, Altinbas M; Factors related to complementary/ alternative medicine use among cancer patients in central Anatolia. *Tumori*, 94, 833-7, 2008.
- Ozmen V; Breast Cancer in the world and Turkey. *The Journal of Breast Health* 4:1-4, 2008.
- Patel, S.S.; Acharya, A.; Ray, R.S.; Agrawal, R.; Raghuwanshi, R.; Jain, P. Cellular and molecular mechanisms of curcumin in prevention and treatment of disease. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 60, 887–939,2020.
- Perez, A.T.; Arun, B.; Tripathy, D. A phase 1B dose escalation trial of *Scutellaria barbata* (BZL101) for patients with metastatic breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 120(1), 111-118,2010.
- Perroud, H.A.; Alasino, C.M.; Rico, M.J.; Mainetti, L.E.; Queralt, F.; Pezzotto, S.M.; Rozados, V.R.; Scharovsky, O.G. Metastatic breast cancer patients treated with low-dose metronomic chemotherapy with cyclophosphamide and celecoxib: Clinical outcomes and biomarkers of response. *Cancer Chemother. Pharmacol.*,77,

365–374,2016.

- Pezzani, R., Salehi, B., Vitalini, S., Iriti, M., Zuñiga, F. A., Sharifi-Rad, J., Martins, N.; Synergistic effects of plant derivatives and conventional chemotherapeutic agents: An update on the cancer perspective, *Medicina (Lithuania)*, 55(4), 110, 2019.
- Plastina, P.; Bonofoglio, D.; Vizza, D.; Fazio, A.; Rovito, D.; Giordano, C.; Barone, I.; Catalano, S.; Gabriele, B. Identification of bioactive constituents of *Ziziphus jujube* fruit extracts exerting antiproliferative and apoptotic effects in human breast cancer cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 140(2):325-332,2012.
- Prasad, C.P.; Rath, G.; Mathur, S.; Bhatnagar, D.; Ralhan, R. Potent growth suppressive activity of curcumin in human breast cancer cells: Modulation of Wnt/ β -catenin signaling. *Chem. Biol. Interact.*, 181, 263–271,2009.
- Predny, M.L.; De Angelis, P.; Chamberlain, J.L. *Black Cohosh (Actaea racemosa): An Annotated Bibliography; General Technical Report SRS-97; Department of Agriculture Forest Service, Southern Research Station: Asheville, NC, USA*, p. 99,2006.
- Priyadarsini, K.I. The chemistry of curcumin: From extraction to therapeutic agent. *Molecules*, 19, 20091–20112, 2014.
- Pockaj, B.A.; Loprinzi, C.L.; Sloan, J.A.; Novotny, P.J.; Barton, D.L.; Hagenmaier, A.; Zhang, H.; Lambert, G.H.; Reeser, K.A.; Wisbey, J.A. Pilot evaluation of black cohosh for the treatment of hot flashes in women. *Cancer Investig.*, 22, 515–521, 2004.
- Pryme, I. F.; Bardocz, S.; Pusztai, A.; Ewen, S. W. B. “Suppression of growth of tumour cell lines in vitro and tumours in vivo by mistletoe lectins,” *Histology and Histopathology*, vol. 21, no. 3, pp. 285–299, 2006.
- Puhalla, S.; Brufsky, A.; Davidson, N. Adjuvant endocrine therapy for premenopausal women with breast cancer. *Breast*, 18 (Suppl. 3), S122–S130,2009.
- Quispe-Soto, E.T.; Calaf, G.M. Effect of curcumin and paclitaxel on breast carcinogenesis. *Int. J. Oncol.* 49, 2569–2577, 2016.
- Rajput, S.; Kumar, B.N.; Dey, K.K.; Pal, I.; Parekh, A.; Mandal, M. Molecular targeting of Akt by thymoquinone promotes G(1) arrest through translation inhibition of cyclin D1 and induces apoptosis in breast cancer cells. *Life Sci.*, 93, 783–790. 2013.
- Ramaekers, F. C. S.; Harmsma, M.; Tussenius, K. J.; Schutte, B.; Werner, M.; M. Ramos, “Mistletoe extracts (*Viscum album* L.) Iscador interact with the cell cycle machinery and target survival mechanisms in cancer cells,” *Medicina*, vol. 67, no. 2, pp. 79–84, 2007.
- Riva, L.; Coradini, D.; Di Fronzo, G. “The antiproliferative effects of *Uncaria tomentosa* extracts on human breast cancer cells,” *Journal of Ethnopharmacology*, 140(2):325-332,2012.

- tosa extracts and fractions on the growth of breast cancer cell line,” *Anticancer Research*, vol. 21, no. 4A, pp. 2457–2461, 2001.
- Rostock, M.; Fischer, J.; Mumm, A.; Stammwitz, U.; Saller, R.; Bartsch, H.H. Black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) in tamoxifen-treated breast cancer patients with climacteric complaints—A prospective observational study. *Gynecol. Endocrinol.*, 27, 844–848, 2011.
- Rossi, R. E.; Pericleous, M.; Mandair, D.; Whyand, T.; Caplin, M. E. “The role of dietary factors in prevention and progression of breast cancer,” *Anticancer Research*, vol. 34, no. 12, pp. 6861–6875, 2014.
- Roy, S. “Breast Tumour Regression using Mistletoe Extract: An evidence from an Indian Clinic,” *Helix*, vol. 1, pp. 651–655, 2015.
- San, B.; Yildirim, A.N. Phenolic, alphanatocopherol, beta-carotene and fatty acid composition of four promising jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) selections. *Journal of food composition and analysis*, 23(7):706-710, 2010.
- Sankari, S.L.; Masthan, K.M., Babu, N.A. Bhattacharjee T, Elumalai M: Apoptosis in cancer an update. *Asian Pac J Cancer Prev*, 13:4873-4878, 2012.
- Santos, C.; Araujo Mdo, I. L.; Farias, J. “*Uncaria tomentosa*—adjuvant treatment for breast cancer: clinical trial,” *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2012, Article ID 676984, 8 pages, 2012.
- Schroeder, E.K.; Kelsey, N.A.; Doyle, J.; Breed, E.; Bouchard, R.J.; Loucks, F.A.; Harbison, R.A.; Linseman, D.A. Green tea epigallocatechin 3-gallate accumulates in mitochondria and displays a selective anti-apoptotic effect against inducers of mitochondrial oxidative stress in neurons. *Antioxid. Redox Signal.*, 11, 469–480, 2009.
- Sezgin, C., 2010. Bitkilerle tedavi senpozyumu. Ege Üniversitesi, Tıp fakültesi, İç hastalıklar Anabilim Dalı. İzmir, Türkiye.
- Shanmugam, M.K.; Ahn, K.S.; Hsu, A.; Woo, C.C.; Yuan, Y.; Tan, K.H.B.; Chinnathambi, A.; Alahmadi, T.A.; Alharbi, S.A.; Koh, A.P.F.; et al. Thymoquinone inhibits bone metastasis of breast cancer cells through abrogation of the CXCR4 signaling axis. *Front Pharmacol.*, 9, 1294,2018.
- Shao, Y.; Harris, A.; Wang, M.; Zhang, H.; Cordell, G.A.; Bowman, M.; Lemmo, E. Triterpene glycosides from *Cimicifuga racemosa*. *J. Nat. Prod.*, 63, 905–910, 2000.
- Sheng, Y.; Bryngelsson, C.; Pero, R. W.; “Enhanced DNA repair, immune function and reduced toxicity of C-MED100(TM), a novel aqueous extract from *Uncaria tomentosa*,” *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 69, no. 2, pp. 115–126, 2000.
- Shin-Jung Kim, S.J.; Kim, A.K. Anti-breast cancer activity of Fine Black ginseng (*Panax ginseng* Meyer) and ginsenoside Rg5. *Journal of Ginseng Research*,

- 39(2), 125-134,2015.
- Shrubsole, M.J.; Lu, W.; Chen, Z.; Shu, X.O.; Zheng, Y.; Dai, Q.; Cai, Q.; Gu, K.; Ruan, Z.X.; Gao, Y.-T.; et al. Drinking green tea modestly reduces breast cancer risk. *J. Nutr.*, 139, 310–316, 2009.
- Sonve, G. S.; Ryu, W. S.; Kim, H. Y. “Immunologic response to mistletoe extract (*Viscum album L.*) after conventional treatment in patients with operable breast cancer,” *Journal of Breast Cancer*, vol. 13, no. 1, pp. 14–18, 2010.
- Sundaravadevelu, S.; Raj, S.K.; Kumar, B.S.; Arumugamand, P.; Raguathan, P.P. Reverse screening bioinformatics approach to identify potential anti breast cancer targets using thymoquinone from nutraceuticals black Cumin il. *Anticancer Agents Med. Chem.*, 19, 599–609,2019.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A cancer journal for clinicians*.
- Sung, J., and Lee, J; Antioxidant and antiproliferative activities of grape seeds from different cultivars, *Food Sci. Biotechnol.*, 19 (2), 321-326, 2010.
- Tagne, S.R., Armel, H.N.K, Farah, M; Medicinal Plants in Breast Cancer Therapy *Journal of Diseases and Medicinal Plants*, 1(1), 19-23, 2015.
- Tahergorabi, Z.; Abedini, M.Z.; Fard, M.H.; Beydokhti, H. “*Ziziphus jujuba*”: A red fruit with promising anticancer activities. *Pharmacognosy Reviews*, 9(18): 99, 2015.
- Thangapazham, R. L.; Singh, A. K.; Sharma, A.; Warren, J.; Gaddipati, J. P. “Green tea polyphenols and its constituent epigallocatechin gallate inhibits proliferation of human breast cancer cells in vitro and in vivo,” *Cancer Letters*, vol. 245, no. 1-2, pp. 232–241, 2007.
- Thangapazham, R. L.; Passi, N.; Maheshwari, R. K. “Green tea polyphenol and epigallocatechin gallate induce apoptosis and inhibit invasion in human breast cancer cells,” *Cancer Biology and Therapy*, vol. 6, no. 12, pp. 1938–1943, 2007.
- Troger, W.; Zdrale, Z.; Stankovic, N.; Matija, M.sevic, “Five- year follow-up of patients with early stage breast cancer after a randomized study comparing additional treatment with *Viscum album (L.)* extract to chemotherapy alone,” *Breast Cancer: Basic and Clinical Research*, vol. 6, no. 1, pp. 173–180, 2012.
- Troger, W.; Zdrale, Z.; Tisma, N.; Matijasevic, M. “Additional ´ therapy with a mistletoe product during adjuvant chemotherapy of breast cancer patients improves quality of life: an open randomized clinical pilot trial,” *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2014, Article ID 430518, 9 pages, 2014.
- Tsubura, A.; Lai, Y.C.; Kuwata, M.; Uehara, N.; Yoshizawa, K. Anticancer effects of

- garlic and garlic-derived compounds for breast cancer control. *Anticancer Agents Med. Chem.*, 11, 249–253, 2011.
- Tyagi, T.; Treas, J.N.; Mahalingaiah, P.K.; Singh, K.P. Potentiation of growth inhibition and epigenetic modulation by combination of green tea polyphenol and 5-aza-20 -deoxycytidine in human breast cancer cells. *Breast Cancer Res. Treat.*, 149, 655–668, 2015.
- VandeCreek, L.; Rogers, E.; Lester, J. Use of alternative therapies among breast cancer outpatients compared with the general population. *Altern. Ther. Health Med.*, 5, 71–76, 1999.
- Vermes, G.; Banhidy, F.; Acs, N. The effects of Remifemin on subjective symptoms of menopause. *Adv. Ther.*, 22, 148–154, 2005.
- Vinod, B.S.; Antony, J.; Nair, H.H.; Puliyappadamba, V.T.; Saikia, M.; Narayanan, S.S.; Bevin, A.; Anto, R.J. Mechanistic evaluation of the signaling events regulating curcumin-mediated chemo-sensitization of breast cancer cells to 5-fluorouracil. *Cell Death Dis.*, 4, e505, 2013.
- Vogelstein, B.; Kinzler, K.W. *The Genetics Basis of Human Cancer*. 2nd edition. The McGraw-Hill Companies Inc. p.76, 2002.
- Wang, X.; Hang, Y.; Liu, J.; Hou, Y.; Wang, N.; Wang, M. Anticancer effect of curcumin inhibits cell growth through miR-21/PTEN/Akt pathway in breast cancer cell. *Oncol. Lett.*, 13, 4825–4831, 2017.
- Wang, X.; Bastow, K. F.; Sun C.M. “Antitumor agents. 239. Isolation, structure elucidation, total synthesis, and anti-breast cancer activity of neo-tanshinlactone from *Salvia miltiorrhiza*,” *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 47, no. 23, pp. 5816–5819, 2004.
- Wang, X.; Wei, Y.; Yuan, S. “Potential anticancer activity of tanshinone IIA against human breast cancer,” *International Journal of Cancer*, vol. 116, no. 5, pp. 799–807, 2015.
- Wang, Y., Zhang, Q., Chen, Y., Liang, C. L., Liu, H., Qiu, F., Dai, Z; Antitumor effects of immunity-enhancing traditional Chinese medicine. *Biomedicine and pharmacotherapy*, 121, 109570, 2020.
- Wong, C. K.; Bao, Y. X.; Wong, E. L.; Leung, P. C.; Fung, K. P.; Lam, C. W.; “Immunomodulatory activities of Yunzhi and Danshen in post-treatment breast cancer patients,” *The American Journal of Chinese Medicine*, vol. 33, no. 3, pp. 381–395, 2005.
- Woo, C.C.; Hsu, A.; Kumar, A.P.; Sethi, G.; Tan, K.H. Thymoquinone inhibits tumor growth and induces apoptosis in a breast cancer xenograft mouse model: The role of p38 MAPK and ROS. *PLoS ONE*, 8, 75356, 2013.
- Woo, C.C.; Loo, S.Y.; Gee, V.; Yap, C.W.; Sethi, G.; Kumar, A.P.; Tan, K.H.B. An-

- ticancer activity of thymoquinone in breast cancer cells: Possible involvement of PPAR- γ pathway. *Biochem. Pharmacol.*, 82, 464–475, 2014.
- Weissenstein, U.; Kunz, M.; Urech, K.; Baumgartner, S. “Interaction of standardized mistletoe (*Viscum album*) extracts with chemotherapeutic drugs regarding cytostatic and cytotoxic effects in vitro,” *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 14, article no. 6, 2014.
- Weissenstein, U.; Kunz, M.; Urech, K.; Regueiro, U. “Interaction of a standardized mistletoe (*Viscum album*) preparation with antitumor effects of Trastuzumab in vitro,” *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 16, no. 1, article no. 271, 2016.
- Yang, W.; Ju, J.H.; Jeon, M. J. “Danshen (*Salvia miltiorrhiza*) extract inhibits proliferation of breast cancer cells via modulation of akt activity and p27 level,” *Phytotherapy Research*, vol. 24, no. 2, pp. 198–204, 2010.
- Yarnell, E.; Abascal, K. *Nigella sativa*: Holy herb of the Middle East. *Altern. Complement*, 17, 99–105. 2011.
- Yedjou, C.; Izevbigie, E.; Tchounwou, P. Preclinical assessment of *Vernonia amygdalina* leaf extracts as DNA damaging anti-cancer agent in the management of breast cancer. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 5, 337-341,2008.
- Yong, C.; Xiao-Ou, S.; Yu-Tang, G.; Hui, C.; Meng-Hua, T.; Wei, Z. Association of Ginseng Use with Survival and Quality of Life among Breast Cancer Patients. *American Journal of Epidemiology*, 163, 645-653,2006.
- Yoshizawa, Y., Sakurai, K., Kawaii, S., Soejima, J., and Murofushi, N; Antiproliferative and antioxidant properties of crabapple juices, *Fd Sci. Technol. Res.*, 10 (3), 278-281, 2004.
- Yücel, E., ve Tülükoğlu, A; Gediz (Kütahya) çevresinde halk ilacı olarak kullanılan bitkiler, *Ekoloji Çevre Dergisi*, 9 (36), 12-14.9, 2000.
- Zaveri, N. T. “Green tea and its polyphenolic catechins: medicinal uses in cancer and noncancer applications,” *Life Sciences*, vol. 78, no. 18, pp. 2073–2080, 2006.
- Zhang, D.; Nichols, H.B.; Troester, M.; Cai, J.; Bensen, J.T.; Sandler, D.P. Tea consumption and breast cancer risk in a cohort of women with family history of breast cancer. *Int. J. Cancer*, 147, 876–886, 2019.
- Zhang, J.Y.; Liao, Y.H.; Lin, Y.; Liu, Q.; Xie, X.M.; Tang, L.Y.; Ren, Z.F. Effects of tea consumption and the interactions with lipids on breast cancer survival. *Breast Cancer Res. Treat.*, 176, 679–686,2019.
- Zhang, M.; Holman, C.D.; Huang, J.P.; Xie, X. Green tea and the prevention of breast cancer: A case-control study in Southeast China. *Carcinogenesis*, 28, 1074–1788,2007.

Zhan, Y.; Chen, Y.; Liu, R.; Zhang, H.; Zhang, Y. Potentiation of paclitaxel activity by curcumin in human breast cancer cell by modulating apoptosis and inhibiting EGFR signaling. *Arch. Pharm. Res.*,37, 1086–1095, 2014.

Zong, H.; Wang, F.; Fan, Q.X.; Wang, L.X. Curcumin inhibits metastatic progression of breast cancer cell through suppression of urokinase-type plasminogen activator by NF-kappa B signaling pathways. *Mol. Biol. Rep.*, 39, 4803–4808, 2012.

2. BÖLÜM

GROWTH DIFFERENTIATION FACTOR (GDF)-15 VE HASTALIKLA İLİŞKİSİ

Msc.Aida Adıkozalova,

Prof. Dr. Çiğdem KEKİK ÇINAR

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD

cigdem.kekik@istanbul.edu.tr

ORCID NO: 0000-0003-2098-381X

Büyüme/farklılaşma faktörü (GDF)-15, 1977 yılında makrofaj aktivasyonu ile eksprese olan genleri tanımlamak için forbol 12 miristat 13-asetat (PMA) ile işlem görmüş ve görmemiş insan monositoid hücre hattı U937'yi karşılaştıran bir çalışmada cDNA kütüphanesi izole edildi ve insan dönüştürücü büyüme faktörü β (TGF- β) üst ailesinin farklı bir üyesi olarak tanımlandı (1). Başlangıçta MIC-1 (makrofaj inhibitör sitokin-1) olarak adlandırıldı. GDF-15, MIC-1, non-steroidal anti-inflamatuar ilaca bağlı gen (NAG)-1, plasental dönüştürücü büyüme faktörü-beta (pTGFB) da bilinir. Normo-fizyolojik koşullarda GDF-15 ekspresyonu en yüksek plasentada ve prostat epitel hücreleri olmak üzere böbrek, akciğer, pankreas, kalp, iskelet kası, yağ dokusu, karaciğer, gastrointestinal sistem ve beyin gibi çok çeşitli hücre ve dokularda eksprese edilir (2).

GDF15 geni, 19p12-13.1 kromozomu üzerinde lokalizedir. DNA dizisi 2.746 baz çiftidir ve bir intron ile ayrılmış iki ekzonu kapsar. 308 amino asit zinciri bir sinyal peptidi (29 amino asit), bir ön alan (167 amino asit) ve 112 amino asitten oluşur. GDF-15 25-kDa aktif dolaşımdaki dimerik proteini serbest bırakmak için endoplazmik retikulumda parçalanmış 40-kDa'lık bir propeptit olarak salgılanır. Hücre içi proteolitik işlem mümkün olsa da, GDF-15

çoğunlukla pro-protein olarak salgılanır ve pro-alan hücre dışı matrise (ECM) bağlı kalır. Böylece, gizli stromal depolar oluşur (3). ECM’de kalan ön alan, bir yüzey proteini gibi boyanabilir ve bu nedenle GDF-15’in immünohistokimyasal tespiti için tercih edilen hedef haline gelmiştir.

GDF-15 VE METABOLİZMA

Birkaç çalışma, serum GDF-15 seviyeleri ile anoreksiya/kaşeksi arasında doğrudan bir ilişki olduğunu göstermiş ve dönüştürücü büyüme faktörü beta süper ailesinin bir üyesi olan GDF-15’in, metformin kaynaklı kilo kaybının ana aracısı olduğu tespit edilmiştir. Anoreksiya ve kaşeksi, iştah kaybı, ilerleyici kilo kaybı, azalmış yağ dokusu ve iskelet kası kaybı ile karakterize edilen metabolik sendromlardır. Bu metabolik bozukluklar, kansere bağlı tüm ölümlerin yaklaşık %20-30’unu oluşturur (4).

2017’de, GDF-15’in ilk klonlanmasından 20 yıl sonra glial hücreden türetilen nörotrofik faktör ailesi reseptörü alfa benzeri (GFRAL) farklı gruplar tarafından bağımsız olarak 4 dergide GDF-15 için benzersiz reseptör olarak yayınladılar (5,6,7,8). Metformin GDF-15 sekresyonunu artırır, GFRAL’ye bağlanır. Bu bağırsak-beyin sitokini, anoreksiya nervoza ve kanser gibi sağlık ve hastalıkta gıda alımını ve vücut ağırlığını azaltmada rol oynar. Metformin, dolaşımdaki GDF-15’in salgılanmasını uyaran entegre stres yanıtı düzenleyicileri ATF4 ve CHOP’un ekspresyonunu indükler ve bu daha sonra beyin sapındaki özel reseptörü GFRAL’e ve koruyucu reseptörü RET’e bağlanır. GDF-15/GFRAL/RET’in hücre içi sinyali tokluk hissine ve iştahın kontrolüne yol açarak vücut ağırlığının azalmasına neden olur (9). GDF15-GFRAL yolunun fizyolojik önemi hakkında hala önemli bir bilgi eksikliği ve devam eden tartışmalar var. Örneğin, GDF15-GFRAL yolunun aktivasyonu, kanserle ilişkili anoreksiya-kaşeksi sendromuna yol açarken, obezite ile ilişkili morbiditeleri de iyileştirebilir. Lerner L ve ark. yaptığı çalışmada genetiği değiştirilmiş ksenograft fare modelleri kullanılarak, mitojenle aktive olan protein kinaz kinaz kinaz 11’in (MAP3K11) GDF-15 tarafından aktivasyonu, kansere bağlı kaşeksi hayvan modellerinde kilo kaybı için anahtar tetikleyici olarak tanımlandı (10). Başka bir çalışmada GDF-15 eksikliği olan fareler,

yüksek yağlı bir diyetle beslendiklerinde daha fazla kilo aldığı gösterildi (11). GDF-15'in ana düzenleyici olduğu anoreksiya ve kaşekside GDF-15'in modüle edilmesi bu nedenle terapötik olarak faydalı olabilir. Jones JE ve ark. kanser komplikasyonları olarak anoreksiya ve kas kaybının esas olarak artan GDF-11 seviyelerinden kaynaklandığını ve GDF-15'in GDF-11'in suprafizyolojik uygulamasına yanıt olarak upregüle edildiğini ve aynı zamanda GDF-11'in blokajı hem anoreksiyayı hem de kas kaybını önlerken, GDF-15'in inhibisyonu anoreksiyaya karşı en etkili olduğunu gösterdiler (12).

Araştırmacılar en yaygın şekilde kullanılan tip 2 diyabet ilacının anti-obezite etkilerinin farelerde GDF-15'den etkilendiğini bulmuşlar (13). Gelecekte, metformin dozu ve süresi iyi tanımlanmalı ve GDF-15'in metformin kaynaklı kilo kaybının bir biyobelirteç olarak kullanımı sağlanmalıdır. Bununla birlikte, GDF-15'in, diyabetik ve diyabetik olmayan bireylerde metforminin kilo verme etkilerinin bir biyobelirteci olarak rolünü doğrulamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

GEBELİKTE GDF-15

GDF-15 ekspresyonu en yüksek plasenta ve fetal membranda bulunur. Gebe kadınlarda GDF-15 serum düzeylerinin gebeliğin başlangıcında arttığını ve üçüncü trimesterin başında en yüksek konsantrasyonuna ulaştığını gösterilmiştir (14). Gebeliğin 7-13. haftalarında toplanan serumlar üzerine retrospektif bir çalışma yapılmış ve daha sonra düşük yaşayan kadınlarda nispeten daha düşük GDF-15 serum seviyeleri bulunmuştur (15). Petry ve ark. 791 hamile kadından alınan kan örneklerinde ikinci trimesterde bulantısı ve kusması olduğunu bildiren kadınlarda dolaşımdaki GDF-15 konsantrasyonlarının gebelik bulantısı veya kusması olmayan kadınlara göre daha yüksek olduğunu bulmuştur. Ayrıca veriler, artmış serum GDF-15 düzeylerinin gebelik sırasında hem ikinci trimester kusması hem de antiemetik kullanımı ile anlamlı bir şekilde ilişkili olduğunu göstermiş ve GDF-15'in gebelikle ilişkili kusmada patojenik bir rol oynayabileceği öne sürmüşler (16). Fejzo ve ark. GDF-15'in hem ailesel, hem de tekrarlayan hiperemesis gravidarum (HG) vakalarının patogenezinde rol oynadığını göstererek yüksek GDF-15 seviyeleri ile ilişkili tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP'ler) olduğunu bulmuştur. İlginç bir şekilde, anoreksi ve kaşeksi indüksiyonu gebelik sırasında nadiren görülür. Bu-

nunla birlikte, hamile kadınların ~%2'sinde bildirilen hiperemesis gravidarum (*şiddetli mide bulantısı ve kusma*), GDF-15'teki veya insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteindeki (IGFBP)7 polimorfizmlerle bağlantılıdır (17). GDF-15, NVP ve HG için çok ümit verici bir müdahale hedefidir ve gelecekte GDF-15-GFRAL ekseninin translasyonel uygulamasını daha fazla teşvik etmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Seminal plazmadaki GDF-15, sperm hücrelerinin canlılığını etkilemezken, GDF-15, periferik kan mononükleer hücrelerinin (PBMC'ler) proliferasyonunu baskılar ve FOXP3'ün indüksiyonu yoluyla CD4 + CD25 + hücrelerinde düzenleyici bir fenotipi indükler. Böylece GDF-15, sperm hücrelerini annenin bağışıklık sisteminden koruyabilir (18).

DOKU YARALANMASI VE ENFLAMASYONDA GDF-15

Enflamatuar ve stres kaynaklı bir sitokin olan GDF-15'in ekspresyonu, genellikle doku yaralanması üzerine artar. GDF-15 ekspresyonunun, akut karaciğer hasarına ve rejenerasyonuna neden olan çeşitli cerrahi ve kimyasal tedavileri takiben hızla ve dramatik bir şekilde yukarı regüle edildiği bulundu (19). Diğer çalışmada karbon tetraklorür (CCl₄)- veya alkol aracılı karaciğer hasarını takiben gelişmiş GDF-15 seviyeleri gösterdiler (20). İşlevsel olarak, hepatik GDF-15 üretimi, karaciğer iltihabını ve fibrozu iyileştirir. İlk olarak, GDF-15'in kalp dokusu üzerindeki koruyucu işlevi, GDF-15 transgenik fare modellerinin kullanıldığı bir çalışma ile gösterildi ve burada miyokard tarafından salgılanan GDF-15, koruyucu ve antihipertrofik bir faktör olarak görev yaptığı bildirildi (21). Miyokard enfarktüsünden sonra GDF-15'in uyarılmasının, polimorfonükleer lökositlerin (PMN'ler) toplanmasını sınırlamak için gerekli olduğu ve böylece kardiyak rüptüre neden olmadan enfarkt iyileşmesine izin verdiği gösterilmiştir (22).

GDF-15'in sepsis sırasında uyarılması ve doku koruyucu rolü, yazarların GDF-15'i "doku toleransının enflamasyon kaynaklı merkezi aracısı" olarak tanımladı. Özellikle, GDF-15, anti-inflamatuar etkisiyle doku hasarını sınırlamak için enflamasyon ve oksidatif stres tarafından indüklenir ve GDF-15, proinflamatuar sitokinlerin salınmasını engellemek için bağışıklık hücreleri üzerinde hareket eder. Bu nedenle GDF-15, anormal immün yanıtları azal-

tabilir ve ilişkili inflamasyonu önleyebilir (23). GDF-15 eksikliği, nötrofil-lerin aşırı aktivasyonu ve T hücresi kaynaklı hepatik inflamasyon ve fibrozis yoluyla farelerde hepatik hasara neden olur (24). Bu nedenle, rekombinant GDF-15, alkolün neden olduğu karaciğer hasarına ve fibroza karşı potansiyel bir terapötik modalite olabilir.

OTOİMMÜN HASTALIKLAR

Otoimmün hastalıklar, konakçı dokulara karşı dönen bağışıklık hücreleri ile kendi antijenlerine karşı sıklıkla kronik anormal bağışıklık tepkilerinden kaynaklanır. En sık görülen otoimmün hastalıklardan biri olan Romatoid artritli hastalar sıklıkla, eritrosit sedimentasyon hızı seviyeleri, sabah sertliği, hassas eklem sayısı ve karotis intima media kalınlığı gibi semptomlarla ilişkili olan yüksek GDF-15 seviyeleri gösterirler (25). Başka bir otoimmün hastalık olan Tip 1 diyabet (T1D) için, beta hücrelerinde yüksek GDF-15 aktivitesi tanımlanmış ve GDF-15, T1D için bir biyobelirteç olarak önerilmiştir (26). T1D'ye karşı olası bir koruyucu etki, T1D'li bireylerden alınan *ölüm sonrası* adacıklarda GDF-15 bolluğunun azalmasıyla daha da desteklendi (27). Bu gözlemler, GDF-15'in inflamatuvar durumlarda indüklenmesi ile açıklanabilirken, multipl sklerozda tamamen farklı bir sonuç gözlenmektedir. İyi karakterize edilmiş hasta gruplarında, klinik veya görüntüleme akut veya yakın zamanda enflamatuar hastalık aktivitesi belirtisi olmayan 48 MS'li hastalarda daha yüksek GDF-15 konsantrasyonları gözlemlenmişler. Artan GDF-15 konsantrasyonları, stabil hastalığı olan hastalarda endojen bir anti-enflamatuar mekanizmayı yansıtabilir ve gelişen enflamatuar lezyonları erken evrelerinde etkisiz hale getirirken, MRG'de tespit için eşğin hala altında olduğu bildirilmiş ve çalışma sonucu GDF-15'in MS patogenezinde yer almadığını göstermişler (28).

COVID-19 VE GDF-15

Doku hasarı, hipoksi ve yaşlanma arasındaki korelasyon sayesinde, GDF-15, SARS-CoV-2 ile enfekte olmuş bireylerde hastalık şiddetinin önemli bir göstergesi olarak ortaya çıktı (29,30). Özellikle yaşlı bireylerde KOAH gibi

altta yatan akciğer patolojileri olan hastalarda daha belirgindir (31, 32). GDF-15 plazma konsantrasyonu ile oksijen doygunluğu arasında ters bir korelasyon bildirilmiştir, bu da COVID-19’lu kritik hastalarda hastalık şiddetinin sınıflandırılmasına yol açar. Birçok enflamatuvar belirteç arasında, artan GDF-15 ve ferritin seviyeleri, yoğun bakım ünitesinde ve COVID-19 ile hastanede yatan hastalarda kötü sonuçlarla ilişkilendirildi. SARS-CoV-2 ile enfekte hastanede yatan hastalarda sonucun değerlendirilmesinde GDF-15 ve kalprotektin en iyi prognostik belirteçler olarak bulundu (33). De Guadiana ve ark. hastanede yatan COVID-19 hastalarında GDF-15 ile ferritin, CRP, kalprotektin ve D-dimer arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermiştir (34).

Birçok enflamatuvar sinyal yolu, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun patogenezi ile ilgilidir. Özellikle, NF- κ B sinyal yolu, SARS-CoV-2 enfeksiyonunda ORF7a SARS-CoV-2 viral proteini tarafından proinflamatuvar sitokinlerin sonraki ekspresyonu ile aşırı derecede aktive edilir. Bu nedenle, NF- κ B inhibitörleri, enflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu azaltarak SARS-CoV-2 enfeksiyonunun azaltılmasında çok büyük bir role sahiptir (35). Abartılı bağışıklık tepkisi, GDF-15’in ekspresyonunu NF- κ B sinyaline bağımlı yol yoluyla artırabilir (36).

Dolaşımdaki yüksek GDF-15 seviyeleri, böbrek, akciğer, karaciğer ve kardiyovasküler hastalıklar, romatoid artrit, kanserler, anemi gibi enfeksiyonlar dahil olmak üzere kronik inflamatuvar durumlarla ilişkilendirilmiştir. Fizyolojik koşullar altında, yaşlı bireylerde, hamileliğin sonlarında ve yorucu egzersiz sırasında yüksek plazma GDF-15 seviyeleri de rapor edilmiştir. Metformin ve kolşisin gibi bazı ilaçların kullanımı da bağımsız olarak artan GDF-15 seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir. Sonuç olarak, GDF-15, COVID-19 şiddeti ile ilişkili olabilecek bir anti-inflamatuvar sitokindir.

KANSER VE GDF-15

Serumdaki yüksek GDF-15 seviyesi birçok kanserle ilişkilidir. Çeşitli çalışmalar, kanser biyopsi numunelerinde GDF-15 ve protein ekspresyonunun daha yüksek olduğunu göstermiştir. GDF-15 kolorektal kanser (37), akciğer (38), pankreas (39), yumurtalık (40) ve prostat kanseri (41) gibi birçok kanserlerde biyobelirteç olabileceği öne sürüldü. Bununla birlikte, GDF-15’in

kanserde oynadığı rollere ilişkin fonksiyonel çalışmalar sınırlı ve tartışmalıdır. Bazı veriler GDF-15'in tümör baskılayıcı aktiviteye sahip olduğunu öne sürerken, diğer sonuçlar aksini öne sürüyor. MIC1'in anti-tümörijenik işlevi, MIC1'in apoptozu indüklediği ve hücre proliferasyonunu inhibe ettiği birkaç tümör hücre dizisinde tanımlanmıştır (42,43). MIC1 TGF- β sinyal yoluna ait olduğundan ve p53 tarafından düzenlendiğinden, TGF- β sinyallerinin veya p53'ün aşırı aktivasyonunun dahil olabileceği üç ESCC hücre hattında yüksek MIC1 ekspresyonu izlenmiş ve yüksek GDF-15, tümör invazyonu, *lenf nodu* metastazı ve daha kısa nüksüz ve tümöre özgü sağkalım ile pozitif olarak ilişkili bulmuşlar (44). Mide kanserinde, tek değişkenli analizlerde artan GDF-15 seviyeleri, progresyonsuz ve genel sağkalımda azalma ile ilişkilendirildi; çok değişkenli analizlerde, MMP7 ve miR-200c ile kombinasyon halinde yüksek GDF-15, ölüm için bağımsız bir öngörücüdür (45).

KAYNAKÇA

1. Bootcov, M. R., Bauskin, A. R., Valenzuela, S. M., Moore, A. G., Bansal, M., He, X. Y., ... & Breit, S. N. (1997). MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF- β superfamily. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(21), 11514-11519.
2. Jones, R. L., Stoikos, C., Findlay, J. K., & Salamonsen, L. A. (2006). TGF- β superfamily expression and actions in the endometrium and placenta. *Reproduction*, 132(2), 217-232.
3. Bauskin, A. R., Jiang, L., Luo, X. W., Wu, L., Brown, D. A., & Breit, S. N. (2010). The TGF- β superfamily cytokine MIC-1/GDF15: secretory mechanisms facilitate creation of latent stromal stores. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 30(6), 389-397.
4. Lerner, L., Hayes, T. G., Tao, N., Krieger, B., Feng, B., Wu, Z., ... & Garcia, J. M. (2015). Plasma growth differentiation factor 15 is associated with weight loss and mortality in cancer patients. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 6(4), 317-324.
5. Hsu, J. Y., Crawley, S., Chen, M., Ayupova, D. A., Lindhout, D. A., Higbee, J., ... & Allan, B. B. (2017). Non-homeostatic body weight regulation through a brainstem-restricted receptor for GDF15. *Nature*, 550(7675), 255-259.
6. Emmerson, P. J., Wang, F., Du, Y., Liu, Q., Pickard, R. T., Gonciarz, M. D., ... &

- Wu, X. (2017). The metabolic effects of GDF15 are mediated by the orphan receptor GFRAL. *Nature medicine*, 23(10), 1215-1219.
7. Mullican, S. E., Lin-Schmidt, X., Chin, C. N., Chavez, J. A., Furman, J. L., Armstrong, A. A., ... & Rangwala, S. M. (2017). GFRAL is the receptor for GDF15 and the ligand promotes weight loss in mice and nonhuman primates. *Nature medicine*, 23(10), 1150-1157.
 8. Yang, L., Chang, C. C., Sun, Z., Madsen, D., Zhu, H., Padkjær, S. B., ... & Jørgensen, S. B. (2017). GFRAL is the receptor for GDF15 and is required for the anti-obesity effects of the ligand. *Nature medicine*, 23(10), 1158-1166.
 9. Ouyang, J., Isnard, S., Lin, J., Fombuena, B., Peng, X., Chen, Y., & Routy, J. P. (2020). GDF-15 as a weight watcher for diabetic and non-diabetic people treated with metformin. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 581839.
 10. Lerner, L., Tao, J., Liu, Q., Nicoletti, R., Feng, B., Krieger, B., ... & Gyuris, J. (2016). MAP3K11/GDF15 axis is a critical driver of cancer cachexia. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 7(4), 467-482.
 11. Tran, T., Yang, J., Gardner, J., & Xiong, Y. (2018). GDF15 deficiency promotes high fat diet-induced obesity in mice. *PLoS One*, 13(8), e0201584.
 12. Jones, J. E., Cadena, S. M., Gong, C., Wang, X., Chen, Z., Wang, S. X., ... & Glass, D. J. (2018). Supraphysiologic administration of GDF11 induces cachexia in part by upregulating GDF15. *Cell reports*, 22(6), 1522-1530.
 13. Coll, A. P., Chen, M., Taskar, P., Rimmington, D., Patel, S., Tadross, J. A., ... & O'Rahilly, S. (2020). GDF15 mediates the effects of metformin on body weight and energy balance. *Nature*, 578(7795), 444-448.
 14. Moore, A. G., Brown, D. A., Fairlie, W. D., Bauskin, A. R., Brown, P. K., Munier, M. L. C., ... & Breit, S. N. (2000). The transforming growth factor- β superfamily cytokine macrophage inhibitory cytokine-1 is present in high concentrations in the serum of pregnant women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(12), 4781-4788.
 15. Tong, S., Marjono, B., Brown, D. A., Mulvey, S., Breit, S. N., Manuelpillai, U., & Wallace, E. M. (2004). Serum concentrations of macrophage inhibitory cytokine 1 (MIC 1) as a predictor of miscarriage. *The Lancet*, 363(9403), 129-130.
 16. Petry, C. J., Ong, K. K., Burling, K. A., Barker, P., Goodburn, S. F., Perry, J. R., ... & O'Rahilly, S. (2018). Associations of vomiting and antiemetic use in pregnancy with levels of circulating GDF15 early in the second trimester: A nested case-control study. *Wellcome open research*, 3.
 17. Fejzo, M. S., Fasching, P. A., Schneider, M. O., Schwitulla, J., Beckmann, M. W., Schwenke, E., ... & Mullin, P. M. (2019). Analysis of GDF15 and IGFBP7 in hyperemesis gravidarum support causality. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*

- de, 79(04), 382-388.
18. Souček, K., Slabáková, E., Ovesná, P., Malenovská, A., Kozubík, A., & Hampl, A. (2010). Growth/differentiation factor-15 is an abundant cytokine in human seminal plasma. *Human Reproduction*, 25(12), 2962-2971.
 19. Hsiao, E. C., Koniaris, L. G., Zimmers-Koniaris, T., Sebald, S. M., Huynh, T. V., & Lee, S. J. (2000). Characterization of growth-differentiation factor 15, a transforming growth factor β superfamily member induced following liver injury. *Molecular and cellular biology*, 20(10), 3742-3751.
 20. Chung, H. K., Kim, J. T., Kim, H. W., Kwon, M., Kim, S. Y., Shong, M., ... & Yi, H. S. (2017). GDF15 deficiency exacerbates chronic alcohol-and carbon tetrachloride-induced liver injury. *Scientific reports*, 7(1), 1-13.
 21. Xu, J., Kimball, T. R., Lorenz, J. N., Brown, D. A., Bauskin, A. R., Klevitsky, R., ... & Molkenin, J. D. (2006). GDF15/MIC-1 functions as a protective and antihypertrophic factor released from the myocardium in association with SMAD protein activation. *Circulation research*, 98(3), 342-350.
 22. Kempf, T., Zarbock, A., Widera, C., Butz, S., Stadtmann, A., Rossaint, J., ... & Wollert, K. C. (2011). GDF-15 is an inhibitor of leukocyte integrin activation required for survival after myocardial infarction in mice. *Nature medicine*, 17(5), 581-588.
 23. Rochette, L., Zeller, M., Cottin, Y., & Vergely, C. (2021). GDF15: an emerging modulator of immunity and a strategy in COVID-19 in association with iron metabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 32(11), 875-889.
 24. Eddy, A. C., & Trask, A. J. (2021). Growth differentiation factor-15 and its role in diabetes and cardiovascular disease. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 57, 11-18.
 25. Tanrikulu, O., Sariyıldız, M. A., Batmaz, İ., Yazmalar, L., Polat, N., Kaplan, İ., & Çevik, R. (2017). Serum GDF-15 level in rheumatoid arthritis: relationship with disease activity and subclinical atherosclerosis. *Acta reumatologica portuguesa*, (1).
 26. Adela, R., & Banerjee, S. K. (2015). GDF-15 as a target and biomarker for diabetes and cardiovascular diseases: a translational prospective. *Journal of diabetes research*, 2015.
 27. Nakayasu, E. S., Syed, F., Tersey, S. A., Gritsenko, M. A., Mitchell, H. D., Chan, C. Y., ... & Metz, T. O. (2020). Comprehensive proteomics analysis of stressed human islets identifies GDF15 as a target for type 1 diabetes intervention. *Cell metabolism*, 31(2), 363-374.
 28. Amstad, A., Coray, M., Frick, C., Barro, C., Oechtering, J., Amann, M., ... & Mehling, M. (2020). Growth differentiation factor 15 is increased in stable

MS. *Neurology-Neuroimmunology Neuroinflammation*, 7(2).

29. Teng, X., Zhang, J., Shi, Y., Liu, Y., Yang, Y., He, J., ... & Xu, J. (2021). Comprehensive profiling of inflammatory factors revealed that growth differentiation factor-15 is an indicator of disease severity in COVID-19 patients. *Frontiers in immunology*, 12.
30. Romero Starke, K., Petereit-Haack, G., Schubert, M., Kämpf, D., Schliebner, A., Hegewald, J., & Seidler, A. (2020). The age-related risk of severe outcomes due to COVID-19 infection: a rapid review, meta-analysis, and meta-regression. *International journal of environmental research and public health*, 17(16), 5974.
31. Sun, Y., Milne, S., Jaw, J. E., Yang, C. X., Xu, F., Li, X., ... & Sin, D. D. (2019). BMI is associated with FEV1 decline in chronic obstructive pulmonary disease: a meta-analysis of clinical trials. *Respiratory research*, 20(1), 1-10.
32. Al-Mudares, F., Reddick, S., Ren, J., Venkatesh, A., Zhao, C., & Lingappan, K. (2020). Role of growth differentiation factor 15 in lung disease and senescence: potential role across the lifespan. *Frontiers in Medicine*, 7, 594137.
33. Myhre, P. L., Prebensen, C., Strand, H., Røysland, R., Jonassen, C. M., Rangberg, A., ... & Omland, T. (2020). Growth differentiation factor 15 provides prognostic information superior to established cardiovascular and inflammatory biomarkers in unselected patients hospitalized with COVID-19. *Circulation*, 142(22), 2128-2137.
34. de Guadiana Romualdo, L. G., Mulero, M. D. R., Olivo, M. H., Rojas, C. R., Arenas, V. R., Morales, M. G., ... & Consuegra-Sánchez, L. (2021). Circulating levels of GDF-15 and calprotectin for prediction of in-hospital mortality in COVID-19 patients: A case series. *Journal of Infection*, 82(2), e40-e42.
35. Blanco-Calvo, M., Tarrío, N., Reboredo, M., Haz-Conde, M., García, J., Quindós, M., ... & Valladares-Ayerbes, M. (2014). Circulating levels of GDF15, MMP7 and miR-200c as a poor prognostic signature in gastric cancer. *Future Oncology*, 10(7), 1187-1202.
36. Ratnam, N. M., Peterson, J. M., Talbert, E. E., Ladner, K. J., Rajasekera, P. V., Schmidt, C. R., ... & Guttridge, D. C. (2017). NF- κ B regulates GDF-15 to suppress macrophage surveillance during early tumor development. *The Journal of clinical investigation*, 127(10), 3796-3809.
37. Li, C., Wang, J., Kong, J., Tang, J., Wu, Y., Xu, E., ... & Lai, M. (2016). GDF15 promotes EMT and metastasis in colorectal cancer. *Oncotarget*, 7(1), 860.
38. Wang, X., Yang, Z., Tian, H., Li, Y., Li, M., Zhao, W., ... & Zhang, W. (2017). Circulating MIC-1/GDF15 is a complementary screening biomarker with CEA and correlates with liver metastasis and poor survival in colorectal cancer. *Onco-*

- target*, 8(15), 24892.
39. Yang, Y., Yan, S., Tian, H., & Bao, Y. (2018). Macrophage inhibitory cytokine-1 versus carbohydrate antigen 19–9 as a biomarker for diagnosis of pancreatic cancer: A PRISMA-compliant meta-analysis of diagnostic accuracy studies. *Medicine*, 97(9).
 40. Zhao, D., Wang, X., & Zhang, W. (2018). GDF15 predict platinum response during first-line chemotherapy and can act as a complementary diagnostic serum biomarker with CA125 in epithelial ovarian cancer. *BMC cancer*, 18(1), 1-10.
 41. Stephan, C., Rittenhouse, H., Cammann, H., Lein, M., Schrader, M., Deger, S., ... & Jung, K. (2009). New markers and multivariate models for prostate cancer detection. *Anticancer research*, 29(7), 2589-2600.
 42. Li, P. X., Wong, J., Ayed, A., Ngo, D., Brade, A. M., Arrowsmith, C., ... & Klamut, H. J. (2000). Placental transforming growth factor- β is a downstream mediator of the growth arrest and apoptotic response of tumor cells to DNA damage and p53 overexpression. *Journal of Biological Chemistry*, 275(26), 20127-20135.
 43. Martinez, J. M., Sali, T., Okazaki, R., Anna, C., Hollingshead, M., Hose, C., ... & Eling, T. E. (2006). Drug-induced expression of nonsteroidal anti-inflammatory drug-activated gene/macrophage inhibitory cytokine-1/prostate-derived factor, a putative tumor suppressor, inhibits tumor growth. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 318(2), 899-906.
 44. Wang, X. B., Jiang, X. R., Yu, X. Y., Wang, L., He, S., Feng, F. Y., ... & Lu, S. H. (2014). Macrophage inhibitory factor 1 acts as a potential biomarker in patients with esophageal squamous cell carcinoma and is a target for antibody-Sbased therapy. *Cancer science*, 105(2), 176-185.
 45. Blanco-Calvo, M., Tarrío, N., Reboredo, M., Haz-Conde, M., García, J., Quindós, M., ... & Valladares-Ayerbes, M. (2014). Circulating levels of GDF15, MMP7 and miR-200c as a poor prognostic signature in gastric cancer. *Future Oncology*, 10(7), 1187-1202.

3. BÖLÜM

GASTROİNTESTİNAL SİSTEM HASTALIKLARINDA MİKROBİYOTA VE TAMAMLAYICI TEDAVİLERİN ETKİSİ

Dr. Ebru TAŞ

Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Çam ve Sakura Eğitim Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Bölümü,

ORCID: 0000-0002-2179-4941,

ebrutas7498@hotmail.com

GİRİŞ

Tıbbın tarihi süreç içerisindeki gelişimi incelendiğinde, yöntem ve teknikler ile süreçlerin gelişiminin sürekli olarak pozitif bilime yönelimli olduğu görülmektedir. Ancak ilk dönemlerde yapılan tedavilerle ilgili olarak, bireylerin hastalıklarının önce birey yaşamı, ardından yaşam kalitesi üzerine etkilerinin azaltılması için yapılan tüm çalışmalarda, geçmişteki yöntemlerin giderek yerini modern tıba bıraktığı görülmektedir. Bu bakımdan her ne kadar kimi tıp ekolü geleneksel ve tamamlayıcı tedavileri olumsuz görerak kabul etmeme ya da onaylamama tavrını alsa da, tamamlayıcı tıp geçmişten günümüze varlığını hep koruyan bir süreç olarak tıbbi bilimler içerisinde yer almıştır.

Geleneksel tedavi yöntemleri ile tamamlayıcı tıp arasında her ne kadar yüksek düzeyde bir ilişki olsa da, bu iki kavram aslında birbirlerinden oldukça farklıdır. Geleneksel tedavi diye de adlandırılan, ancak günümüzde modern tıp tarafından ciddi şekilde ve sert biçimde eleştirilen tedavi yöntemlerinin, kabul edilebilmesi ve bilimsel olarak bir değer ifade etmesi için, belirli şartları

sağlaması ve taşınması gerekir. Bunların başında faz çalışmaları, kontrollü deneyler, hayvan deneyleri ya da klinik çalışmalar ile meta analizleri gibi yöntemsel konular gelmektedir. Tüm bu süreçleri ve yöntemleri bir arada değerlendiren geleneksel tedavi yöntemleri ise artık modern tıp alanına geçmekte ve daha önce kendisi ile aynı sınıfa koyulan geleneksel tedavi yöntemlerinden ayrılmaktadır.

Aslında bu süreci bir anlamda, modern tıbbın validasyon ve progresif özellikleri ile ilişkilendirmek mümkündür. Yine buradan, modern tıbbın yeniden tanımlanması ve yöntemsel bakımdan geleneksel tedavi yöntemlerinin bilimsel yaklaşımla geçerlilik ve güvenilirliklerini ispat etmeleri şeklinde tanımlamak mümkündür. Dolayısıyla aslında her geleneksel tedavi yönteminin ya modern tıbbın bir yöntemi olmaya aday, ya da bu yöntem ve sınamaları geçemediği takdirde, “alternatif tıp-koca karı ilacı” adayı olduğunu ifade etmek mümkündür.

Tamamlayıcı tıp ise adından da anlaşılacağı gibi, tıbbın belirli alanlarında yapılan tetkikler, verilen tedaviler ve koruyucu hekimlik süreçlerinde yaşanan eksikliklerin, beslenme ve tıbbi bitkiler ile geçmişten gelen geleneksel yöntemler başta olmak üzere, medikal bir sürecin takviyesi gibi düşünülebilir. Bu bakımdan tamamlayıcı tedavi yöntemleri ya da tamamlayıcı tıpta, modern tıp yöntemleriyle koyulan bir tanı ya da teşhis süreci ve bu süreçten çıkan bir tedavi sürecine ilave olarak verilen takviye yardımcıları söz konusudur.

Genellikle tamamlayıcı tedavi yöntemlerinin içerisinde müzik (bimerhaneler gibi), kaplıca, su, beslenme gibi yöntemler girmektedir. Gastrointestinal hastalıklarda ise tamamlayıcı tıbbın özellikle beslenme kısmı önem kazanmaktadır. Genellikle halk arasında geçmişten gelen, çeşitli besin ve otların etkilerine yönelik tedavi anlayışından farklı olarak tamamlayıcı tedavi yöntemleri, kökenini kısmen de olsa bilimsel kanıtlara dayandırmaktadır. Örneğin mide hastalıklarında prebiyotik ya da simbiyotik kullanımı günümüzde doğrudan ilaçlı klinik tedavi yöntemleri arasında olmasa da, tamamlayıcı tıp adı altında, kliniklerde verilmekte ve eczanelerde satılmaktadır. Çünkü alternatif tıp yöntemlerinden farklı olarak tamamlayıcı tıp, modern tıp ile iç içe geçmiştir ve temelde modern tıbbın eksik kalan ya da henüz tam olarak mekanizması çözülemeyen alanlarında, mevcut tedavi süreçlerine destek verilmesini amaçlamaktadır.

Tüm bu süreçlerin dışında, kendi başına bir bilim ya da disiplin haline

gelmeye aday olan ve gastrointestinal hastalıklarla doğrudan ilişkili olan bir diğer kavram ise Mikrobiyota kavramıdır. Temel olarak Mikrobiyota, insan vücudu içerisinde özellikle bağırsaklarda var olan faunanın önemi ve bunun geliştirilmesinin ve korunmasının tüm medikal alanlar ile ilişkili olduğunu öne süren bir terimdir (Bresseer vd, 2022; Liu vd, 2022; Karatay, 2019; Conrad ve Vlassov, 2015; EU, 2018; Kovatcheva-Datchary vd, 2013; Collado vd, 2008). Mikrobiyotanın aslında vücudun ikinci beyni olduğunu iddia eden bu yaklaşım ilk ortaya çıktığı yıllarda yeterli ilgi görmese de, günümüzde Web of Science'ye giren ya da girmeye aday hakemli dergilerin dahi temel konusu olmaktadır.

Temelde bireylerin yedikleri ile sindirdikleri arasındaki ilişki üzerinden gıda ve enerji alımının önemi de yine mikrobiyotanın kusursuz işleyişi ile açıklanmaktadır. Ayrıca vücudun ihtiyacı olan temel elementler ile enerji ve vitamin-minerallerin alımında seçimin bağırsaklarda var olan mikrobiyota ile olduğu öne sürülmektedir. Bu nedenle, yaşamsal fonksiyonlardan hastalıkların oluşumuna, vücudun bunlara karşı vermiş olduğu tepkilere, tedavi süreçlerinin başarısına ve süreç içerisinde hastanın konforuna, koruyucu tedavi süreçlerine kadar birçok alanda mikrobiyota kavramının önemli olduğu vurgulanmaktadır.

Aslında mikrobiyota ile tamamlayıcı tıp ve alternatif tıp kavramları sıklıkla karıştırılan ve üzerinde fikir birliğinin olmadığı alanlardır. Ancak son yıllarda özellikle hakemli bilimsel dergilerde mikrobiyota ve tamamlayıcı tıp çalışmalarının kabul görmesiyle, bu iki kavram alternatif tıp kavramından ayrışarak, daha fazla kabul gören tamamlayıcı tıp çerçevesinde değerlendirilmeye başlanmıştır.

Mikrobiyota ile tamamlayıcı tıp alanında yaşanan gelişmeler ve bu alanda yapılan çalışmalar her ne kadar son yıllarda artış gösterse de, aslında her ikisinin de ortak noktası olan ve birçok hastalıkla aracı ilişkisi olan gastrointestinal hastalıklarda mikrobiyota ve tamamlayıcı tıp üzerine henüz yeterli çalışmanın olmadığı ifade edilebilir. Bu nedenle, bu bölümde ileri çalışmalara kaynak teşkil etmesi ve gastrointestinal hastalıkların teşhis ve tedavi sürecine daha fazla katkı sağlaması bakımından, gastrointestinal hastalıklarda mikrobiyota ve tamamlayıcı tıp ilişkisi incelenmiştir.

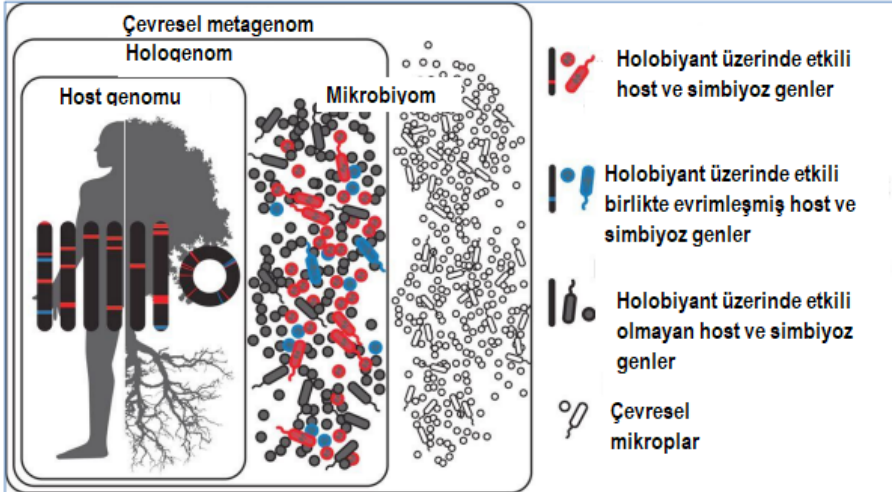
MİKROBİYOTA KAVRAMI

Mikrobiyota belirli bir ortamda, insan vücudunda yaşayan bakteriler, arkealar, mantarlar, protistler ve virüsler dahil olmak üzere bir mikrop veya mikroorganizma topluluğudur. Mikrobiyom terimi, vücut alanını kelimenin tam anlamıyla bölen ve sağlık ve hastalığın belirleyicileri olarak büyük ölçüde göz ardı edilen, komensal, simbiyotik ve patojenik mikroorganizmaların ekolojik bir topluluğunu tanımlamaktadır (Conrad ve Vlassov, 2015).

Mikrobiyota, konakçı organizma ile birlikte gelişir ve normal işleyişinde önemli bir rol oynamakta olup, bu ilişkide menfaatler karşılıklıdır. Bununla birlikte, mikrobiyota yaşayan bir organizmadır ve bileşimi hızla değişebilir. Örneğin patojenik mikroorganizmalar zamanla yararlı ve zararsız olanlara üstün gelebilir ve sonunda hastalığa neden olabilir (EU, 2018).

Mikrobiyomların simbiyotik düzen içerisinde host genomu, k-hologenom ve çevresel metagenom ile ilişkileri Şekil 1’de gösterilmiştir.

Şekil 1. Mikrobiyomların simbiyotik düzen içerisinde host genomu, k-hologenom ve çevresel metagenom ile ilişkileri



Kaynak: EU, 2018: 7.

Şekil 1’de görüleceği gibi, çevresel metagenom içerisinde mikrobiyom ya da mikrobiyota, hologenom ile host genomunu da içeren genetik materyallerdir. Bu bakımdan mikrobiyota sadece kimyasal ve fiziksel olarak birliktelik değil, aynı zamanda genetik birlikteliği de içermektedir.

Bağırsak mikrobiyal ekosistemiyle ilgili son araştırmalar, 1.000’den fazla tür ve muhtemelen çoğu ekilmemiş olan 7.000’den fazla tür tanımlamıştır. Bununla birlikte, daha önce ekilmemiş bağırsak mikroplarının kültürlenmesi için yeni yaklaşımlar geliştirilmektedir. Ek olarak, az sayıda numuneden yüksek verimli genomik DNA dizilemesi ve güçlendirilmiş mikrobiyal genlerin dizilimi için elde edilen bulgular, bağırsak mikrobiyotasının bileşimine yüksek uzamsal-zamansal çözünürlüğe sahip yeni bilgiler sağlamaktadır (Kovatcheva-Datchary vd, 2013). Dolayısıyla mikrobiyota ile ilgili bilgilerin yakın gelecekte daha da artacağını ve daha fazla olacağını ifade etmek mümkündür.

Bağırsak mikrobiyotası kişiye özel olup, kişinin yaşamı boyunca karşılaştığı beslenme, coğrafi köken, doğum şekli, genetik, yaş, yaşam tarzı, antibiyotik kullanımı, geçirilmiş hastalıklar gibi içsel ve dışsal faktörlere bağlı olarak değişir. İnsanlarda sindirim sisteminin mikrobiyotası doğumdan itibaren oluşmaya başlar ve bağırsak sistemi fetal dönemde steril kabul edilir. Ancak yeni araştırmalar, bakterilerin doğum öncesi ortamda da oluşabileceğini göstermiştir. Bu kolonizasyon mekonyum ile ilişkili olabilir. Bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliği için veriliş şekli de çok önemlidir (Karatay, 2019). Bu nedenle, mikrobiyotanın sadece vücut içerisindeki varlığı değil, ediniş şekli ve bireylerin sahip olduğu alışkanlıkların da mikrobiyota üzerinde etkisi vardır. Diğer bir ifadeyle, mikrobiyota vücudun sahip olduğu değişken bir organ gibidir.

Bağırsak mikrobiyomu, henüz kültürü yapılmamış birçok mikrobiyal tür de dahil olmak üzere oldukça çeşitlidir ve bir toplulukta yaşayanlar da dahil olmak üzere insanların bağırsak mikrobiyota bileşimlerini karşılaştırırken yüksek derecede değişkenliğe sahiptir. Ancak özellikle dünyanın farklı yerlerinde yaşayan farklı milletlerden insanlar karşılaştırıldığında bu çeşitlilik daha da belirgindir. Arkea, virüsler, bakteriler ve mantarlar bağırsak mikrobiyotasının bir parçasıdır ve hepsi birbirleriyle ve konakçı ile etkileşime girer. Bu etkileşimler, endokrin sinyalleme, bağışıklık tepkileri ve hatta asit sinyali ve metabolizma gelişimi dahil olmak üzere konakçı gelişimi için

önemli ve hatta temel süreçlerdir (Bresseer vd, 2022). Dolayısıyla bağırsak mikrobiyomunun diğer organlarda bahsedilen mikrobiyom türlerine göre en kapsamlı ve medikal süreçlerden vücut içerisindeki süreçlere kadar en fazla ön plana çıkarılmaktadır.

GASTROİNTESTİNAL HASTALIKLARDA TAMAMLAYICI TIP

Her ne kadar günümüzde tıp biliminde çok ciddi gelişmeler yaşanmış olsa da, birçok hastalığın hem tam olarak etken mekanizması, hem de tedavi süreci ve bu sürece etki eden faktörler tam olarak aydınlatılmış değildir. Bu nedenle, aslında her tıp tedavi sürecinde, destek ya da yardımcı bir takım işlemlere ihtiyaç duyulabilmektedir. Buna da, tamamlayıcı tıp demek mümkündür.

Cochrane Collaboration tarafından kullanılan tanıma göre, tamamlayıcı ve alternatif tıp, belirli bir toplum veya toplumun politik olarak baskın sağlık sistemi dışındaki sağlık yöntemlerini, sistemlerini, uygulamalarını ve ilişkili ilaçları ve inançları kapsayan geniş bir tedavi kaynakları alanıdır. Tamamlayıcı ve alternatif tıp, kullanıcıları tarafından hastalığın önlenmesi veya tedavisi veya sağlık ve esenliğin teşviki olarak tanımlanan tüm bu tür uygulamaları ve fikirleri içermektedir. Tamamlayıcı ve alternatif tıp içindeki ve tamamlayıcı ve alternatif tıp alanı ile baskın sistem arasındaki sınırlar her zaman net veya sabit değildir (Pal, 2002). Bu nedenle, tamamlayıcı ya da alternatif tıp arasındaki çizgiye yönelik ciddi eleştirilerin olduğunu ifade etmek mümkündür. Ancak literatürde yapılan çalışmaların çoğunluğunda, tamamlayıcı ve alternatif tıp terimleri bir arada kullanılmaktadır.

Geleneksel tıp olarak adlandırılan ülkelerde tamamlayıcı tıp ve geleneksel tıp terimleri birbirinin yerine kullanılmaktadır. Tamamlayıcı tıp ve geleneksel tıp, bir ülkenin geleneklerinde kullanılsa da esas olarak bir ülkede kullanılan geleneksel tıbbi ifade etmektedir. Tamamlayıcı tıp ve geleneksel tıp uygulamaları, eski Çin ve Ayurveda tıbbi uygulamalarından ilham almıştır. Bitkisel tedaviler, eski zamanlardan beri şifacılar ve şamanlar tarafından kullanılmaktadır ve eski tıbbın bir parçası gibi görünmektedir. Geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamaları, 19. yüzyılda homeopati ve osteopati gibi uygulamalarla geliştirilmiştir. 1993 yılında ABD Hükümeti tarafından kurulan Alternatif Tıp Ofisi'nin sorumlulukları genişletilmiş ve alanında giderek

artan uygulama ve literatürdeki bilgi eksikliğini gidermek için ofis, Ulusal Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp Merkezi olarak yeniden açılmıştır (Deniz vd, 2021).

Tamamlayıcı ve alternatif tıp insanlığın var oluşundan beri kullanılsa da 90'lı yıllardan sonra yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1990 ile 1997 yılları arasında tamamlayıcı ve alternatif tıp kullanımı %33,8'den %42,1'e yükselmiştir. Hastalık belirtileri, sağlık ekiplerinden ve tedavi sonuçlarından memnuniyetsizlik, tıbbi maliyetlerin yüksek olması, ilaç veya tedavilerin yan etkileri, kişinin kendi tıbbi uygulamasında kontrol eksikliği gibi faktörler nedeniyle tamamlayıcı ve alternatif tıp kullanımı artmıştır. Sistematik bir incelemede, genel popülasyonda tamamlayıcı ve alternatif tıbbın yaygınlık oranları %5 ile %74,8 arasında değişmektedir. Tamamlayıcı ve alternatif tıp kullanım oranları ülkeden ülkeye hatta bölgeden bölgeye değişebilmektedir. Tamamlayıcı ve alternatif tıbbın kullanımı, inançlara, dinlere, yaşam tarzlarına ve muhtemelen belirli bir coğrafi bölgede yetişen belirli bitkilere bağlı olarak kültürler arasında değişiklik gösterir. Türkiye'de tamamlayıcı ve alternatif tıp kullanımı bazı araştırmalara konu olmuştur. Bu çalışmalarda tamamlayıcı ve alternatif tıp kullanım yüzdesi %35,3 ile %86,3 arasında değişmektedir. Yaşlılar üzerinde yapılan araştırmalarda tamamlayıcı ve alternatif tıp kullanım yüzdesi %27,7 ile %88 arasında değişmektedir (Erdoğan vd, 2017).

2002'de Amerikalılar en yaygın olarak şifalı bitkiler (%19), derin nefes alma (%12), meditasyon (%8), kayropratik (%8), yoga (%5), masaj (%5) ve diyet (%4) seçeneklerini tamamlayıcı tıp olarak kullanmıştır. Kullanım, daha eğitilmiş sektörde, kadınlarda ve daha yüksek gelir gruplarında daha yaygın olarak rapor edilmiştir. Kullanıcılar ayrıca obezite, depresyon veya kronik hastalığa yatkın olarak bildirilmiştir. İngiltere'de 2005 yılında yapılan bir araştırma da benzer sonuçlar vermiştir (Pace, 2012). Alternatif ve tamamlayıcı tıp ile ilgili çalışmaların ve elde edilen sonuçların, farklı toplumlar arasında benzer sonuçlar verdiğini ifade etmek mümkündür.

Tamamlayıcı ve alternatif tıp, standart tıbbi bakımın parçası olmayan tıbbi ürünler ve yöntemler için kullanılan bir terimlerdir. Standart bakım, doktorların, osteopatların ve kayıtlı hemşireler ve fizyoterapistler gibi yardımcı sağlık uzmanlarının yaptığı işlemlerdir. Tamamlayıcı tıp, standart tedavilerle birlikte kullanılan standart dışı tedaviler anlamına gelmektedir. Alternatif tıp, standart

tıbbi uygulamanın yerini almak yerine eşlik etmesi amaçlanan tamamlayıcı tıptan farklıdır. Alternatif tıbbi uygulamalar genellikle tıp tarafından standart veya geleneksel tıbbi yaklaşımlar olarak kabul edilmemektedir (Babu vd, 2016). Ancak tamamlayıcı tıp ise alternatif tıba göre daha fazla kabul edilen ve onaylanan bir yaklaşım ve terimdir.

Küreselleşme bağlamında, gelişmekte olan ülkelerde morbidite yapısı değişmektedir. Bulaşıcı hastalıkların egemen olduğu geçmişten farklı olarak, gelişmekte olan ülkelerdeki sağlık yükünün yüzde 50'si hipertansiyon, kardiyovasküler hastalık, diyabet, depresyon, tütün kullanımı ve diğer bağımlılık yapan maddeler gibi bulaşıcı olmayan hastalıklardan gelmektedir. Yaşam tarzı, diyet, obezite, sedanter yaşam tarzları ve stres bulaşıcı olmayan bu hastalıklara önemli katkıda bulunduğundan, özellikle bu faktörlere yönelik tamamlayıcı ve alternatif tıp ve geleneksel tıp yaklaşımları, geleceğin sağlık stratejilerinin tasarlanmasında giderek daha önemli hale gelecektir (Debas vd, 2006). Dolayısıyla tamamlayıcı tıp sadece gastrointestinal hastalıklar için değil, diğer sağlık yükü içeren hastalıklar için de, önemli ve güncel bir sağlık konusu olarak ön plana çıkmaktadır.

Fonksiyonel gastrointestinal hastalıklar, bilinen organik nedenleri olmayan gastrointestinal hastalıkları ifade eder. Bir dizi Roma kriterinde iyi tanımlanmışlardır. Hastalıkların bilinmeyen/belirsiz nedenleri sebebiyle, bu kriterlerin her biri semptomlara ve semptomların tezahürlerine göre belirlenir. Özofagusta yaygın fonksiyonel gastrointestinal bozukluklar, fonksiyonel disfaji gibi yutma bozukluklarını, gastrointestinal reflü gibi reflü bozukluklarını ve kardiyak olmayan göğüs ağrısı gibi özofagus aşırı duyarlılığını içerir. Midede fonksiyonel dispepsi ve gastroparezi iki ana fonksiyonel bozukluktur. Açıklanamayan karın ağrısı veya fonksiyonel karın ağrısı da fonksiyonel gastrointestinal hastalıklarda sık görülen sorunlardan biridir. Gastrointestinal sistemin fonksiyonel hastalıkları arasında yalancı bağırsak obstrüksiyonu, postoperatif ileus ve irritabl bağırsak sendromu yer alır. İshal ve kabızlık hem kolonu hem de rektumu etkileyebilir. Gastrointestinal sistemin fonksiyonel hastalıkları genel popülasyonda çok yaygındır ve gastroenteroloji kliniklerine başvuran hastaların %40 veya daha fazlasını oluşturmaktadır (Chen, 2017).

Gastrointestinal hastalıklarda tamamlayıcı tıp uygulamaları incelendiğinde, daha çok tedavisi mümkün olmayan ya da kronik seyreden hastalıklarda, tıbbi çözümlerin yeterli olmadığı durumlarda tamamlayıcı tıp çalışmaları ve

uygulamaları daha fazla ön plana çıkmaktadır.

Gastrointestinal rahatsızlıkları olan hastalar, önemli bir maliyetle ve çok az etkililik kanıtı ile tamamlayıcı ve alternatif tedavileri kullanmaya devam etmektedir. Birinci basamak hekimleri ve gastroenterologlar, hastaların hangi alternatif tedavileri kullandığını bilmek ve bilinçli önerilerde bulunmak istemektedir. Hastalar tamamlayıcı ve alternatif tıbbi sadece daha iyi hissetmek için değil, aynı zamanda kendi tıbbi kararlarını kontrol altına almak için seçerler. Bu koşullar altında hekimin tamamlayıcı ve alternatif tıp yöntemlerini açıkça reddetmesi hasta hekim ilişkisini zedeleyebilir. Belirli bir tedaviyle ilgili mevcut literatür olduğunda, artıları ve eksileri tartışmak hastanın güvenini oluşturmaya yardımcı olabilir. Hipnoterapi, nane yağı veya akupunktur gibi gerçek veya plasebo gibi zararsız görünen ve potansiyel faydaları olabilecek alternatif tedavileri tartışmak, hasta için çok pahalı olmadıkları sürece makuldür. Özellikle bitkisel tedavilerle ilgili olarak, doğal veya alternatiflerin güvenli olanlarla eşdeğer olmadığını vurgulamak önemlidir. Bitkisel yan etkiler, toksisite ve şifalı bitkilerle ilaç etkileşimleri meydana gelebilir ve hastalar bunların farkında olmalıdır. Ek olarak, şifalı otların saflığının ve dozajının düzenlenmesi sorunlu olmaya devam etmektedir (Tillisch, 2007).

Tamamlayıcı ve alternatif tıp yöntemlerini kullanan hasta ve hekim sayısının artmasıyla birlikte gastrointestinal hastalıkların tedavisinde tamamlayıcı ve alternatif tıp kullanımına yönelik araştırmalarda artış olmuştur. Tamamlayıcı ve alternatif tıp yöntemleri arasında kayropratik, masaj, bitkisel ilaç, akupunktur, yakı, hacamat, probiyotik mikrobiyal tedavi, beslenme, meditasyon, yoga ve qigong gibi çok çeşitli yaklaşımlar yer alır. Bunlar arasında, bitkisel ilaçlar, tek bir bitki veya birkaç bitkinin karışımı ve akupunktur, gastrointestinal bozukluklar için en kapsamlı şekilde incelenmiştir. Örneğin, Çin'deki klinik araştırmalar, bazı bitkisel preparatların ülseratif kolit, refrakter ve kronik inflamatuvar barsak hastalığının tedavisinde Batılı preparatlardan daha üstün olduğunu göstermiştir. Özellikle fonksiyonel dispepsi ve irritabl barsak hastalığı gibi fonksiyonel gastrointestinal bozukluklar, akupunktur veya yakı kullanan araştırmaların nispeten ana hedefleri olmuştur. Seri denemeler, akupunktur ile gastrointestinal motilitenin modülasyonunun, gastrointestinal sistemdeki fonksiyonel bozukluklar üzerindeki etkisinden sorumlu mekanizmalardan biri olabileceğini göstermiştir. Bununla birlikte, gastrointestinal hastalıklar için

tamamlayıcı ve alternatif tıp yöntemlerinin etkinliğini, güvenliğini ve maliyet etkinliğini hala kapsamlı araştırmalar ve verilerle kanıtlamak gerekmektedir (Son vd, 2013).

Gastrointestinal semptomlar, ağızdan alınan herhangi bir bitkisel veya doğal ürünün potansiyel yan etkileri olarak ortaya çıkabilir. Bu etkiler, bitkinin, hayvanlar tarafından yenmesini önlemek için savunma sisteminin bir parçası olabilir. Uygulamada, bu yan etkiler nadirdir. Ek olarak, toksisite yanlılıkla bu ajanlara atfedilebilir. Örneğin, berberin içeren goldenseal'in gastrointestinal rahatsızlıklara neden olabileceği sonucu, berberinin hayvan toksikolojik çalışmalarından veya 19. yüzyıl homeopatik literatüründen doğru bir şekilde çıkarılmamış olabilir (Koretz ve Rotblatt, 2004). Dolayısıyla aslında alternatif ya da tamamlayıcı tıp çalışmalarında ve uygulamalarında, gastrointestinal sistem tarihsel süreç boyunca bunun birçok örneğini de vermiştir.

Genel popülasyonda fonksiyonel gastrointestinal hastalıkların prevalansı yüksek olmasına rağmen, çeşitli fonksiyonel gastrointestinal hastalıkların patofizyolojisi belirsiz olduğundan tedavi seçenekleri sınırlıdır. Şu anda, çoğu tedavi, hastalığın altında yatan nedenlerden ziyade semptomları hafifletmek için reçete edilmektedir. Bu nedenle, konvansiyonel tıbbi hastalar memnun değildir ve genellikle alternatif ve tamamlayıcı müdahaleler ararlar. Çeşitli araştırmalara göre, alternatif ve tamamlayıcı tıp kullanımı genel popülasyonda %5 ila %70, çocuklarda %40, inflamatuvar barsak hastalığı olan hastalarda %50 ve irritabl barsak sendromlu hastalarda %50'den fazla değişmektedir. Akupunktur, bitkisel ilaçlar ve davranışsal terapi, fonksiyonel gastrointestinal bozuklukları ve diğer durumları tedavi etmek için kullanılan yaygın alternatif ve tamamlayıcı tedavilerdir (Chen, 2017).

GASTROİNTESTİNAL SİSTEM HASTALIKLARINDA MİKROBİYOTA VE TAMAMLAYICI TIP TEDAVİLERİ

İnsan mikrobiyomunda cilt, ağız, burun, sindirim sistemi ve vajina mikrobiyomları arasında bir ayrım yapılabilir. Genelde bu alanda yapılan ilk çalışmalar, insan bağırsağı mikrobiyomuna odaklanmaktadır. Mikroorganizmalar, ağızdan rektuma kadar insan gastrointestinal sisteminde bulunur. Yoğunluk ve bileşim, aşağıda açıklanacağı gibi, anatomik yerleşim

ve çeşitli etkileyen faktörlere göre değişir. Düşük pH nedeniyle midedeki içeriği düşüktür. Kolonda, koşullar yoğun bir mikrobiyal topluluk için elverişlidir. Mikroorganizmaların çoğu anaerobik organizmalardır (EU, 2018). Dolayısıyla mikrobiyotaya ile gastrointestinal sistem arasındaki ilk ilişki, mikrobiyotaya ile ilgili ilk çalışmaların gastrointestinal sistem üzerinden başlamasına dayanmaktadır.

İnsan vücudunun bir iç parçası olan sindirim sistemi ve mikrobiyomu, beslenme, yaşam tarzı, ilaçlar ve çevresel faktörler gibi çeşitli dış etkenlerden doğrudan etkilenir. Bağırsak mikrobiyomu, vitamin ve amino asitlerin biyosentezinin yanı sıra kritik metabolik yan ürünlerin üretimi yoluyla insan sindirim sisteminin birincil amacına doğrudan katkıda bulunur. Bu yan ürünler, bağırsak epitel hücreleri için önemli bir enerji kaynağı olan bütirat gibi kısa zincirli yağ asitlerini içerir. İkincisi, asitler bile mikroplar tarafından üretilen başka bir metabolit kategorisidir. Çok sayıda çalışma, bağırsak mikrobiyotası, hatta asitler ve obezite arasında bir bağlantı olduğunu göstermiştir (Bresseer vd, 2022). Bu gibi araştırmalar ve kanıtlar, mikrobiyotaya ile gastrointestinal sistem arasındaki ilişkinin, diğer sistemler ile mikrobiyotaya arasındaki ilişkiden daha güçlü olduğunu ortaya koymaktadır.

Bağırsak mikrobiyotası duodenumdan ileuma doğru belirgin bir şekilde değişir ve kolondaki mikrobiyal yük 10^{12} düzeyinde mikroba yükselir. Bu, artan pH, gastrointestinal geçiş, besin mevcudiyeti, müsin salgılanması, bağıışıklık fonksiyonu, yaş ve konakçı sağlığı ile ilişkilidir (Mangiola vd, 2018). Dolayısıyla gastrointestinal sistem içerisinde bağırsak mikrobiyotası kendi içerisinde de değişken özellikler göstermektedir.

Gastrointestinal hastalıklarda alternatif tıp ve mikrobiyotaya çalışmalarının ya da yöntemlerinin etkileri genel olarak değerlendirildiğinde, zamansal anlamda ilk farklılığın ortaya çıktığını ifade etmek mümkündür. Diğer bir ifadeyle, mikrobiyotaya ile ilgili tamamlayıcı tedavi yöntemleri daha çok hastalıklardan korunma ve hastalık öncesinde yaygın olarak kullanılırken, diğer tamamlayıcı tedavi yöntemleri ise hastalık ortaya çıktıktan sonra, tedavi sürecini desteklemek için ya da tedavi sürecinde memnun olunmayan, tedavinin yetersiz olduğu durumlarda veya semptomları azaltma amaçlı kullanılmaktadır. Bunlar arasında en yaygın olan, tamamlayıcı tıp ve mikrobiyotaya alanının gastrointestinal sistem ilişkisinde ortaya çıkan, probiyotik ve simbiyotiklerdir.

Aslında prebiyotik ve simbiyotikler ile ilgili her ne kadar doğrudan

tedavi işlevi gördüğüne yetecek faz ve klinik çalışmaları olmasa da, uygulamada elde edilen veriler ve sınırlı da olsa klinik çalışmalar, prebiyotik ve simbiyotiklerin hastalık tedavi sürecinde yan etkilerin azaltılmasında önemli rol oynadıklarını göstermektedir. Bunun dışında, tamamlayıcı tıp uygulamaları ile gastrointestinal hastalıklar arasında hem tamamlayıcı tıp uygulamalarının yolu bakımından, hem de beslenme ve hastalıkların etkisi bakımından doğrudan ve dolaylı ilişki vardır.

SONUÇ

Mikrobiyota ile tamamlayıcı tıp arasındaki ilişki gastrointestinal hastalıklar üzerinden incelendiğinde, aslında her iki alanın da ortak noktası ve kesişimlerinin gastrointestinal hastalıklar olduğu, en azından her iki alanın da uygulamalarında, en önemli ve belirleyici alanın gastrointestinal sistem ve bu sisteme bağlı hastalıklar olduğunu ifade etmek mümkündür. Özellikle besin ve takviyelerin alımında, mikrobiyota ve tamamlayıcı tıbbın temel alım yolunun, gastrointestinal sistem olduğunu vurgulamak gerekir.

Vücut içerisindeki herhangi bir fizyolojik ya da biyolojik süreçte, bir maddenin bu sürece dahil edilmesinin temelde üç yolu vardır. Bunlar cilt, beslenme ya da ağızdan alma ve damar yoluyla alımdır. Damar yolu alımındaki tüm süreçler günümüzde modern tıbbın alanına girmektedir ve mikrobiyota ve tamamlayıcı tıbbın bu yollarla vücuda girme ve süreçlere müdahale etme yetkisi ve olanağı yoktur. Tamamlayıcı tıpta ise deri yoluyla, solunumla ve beslenme yoluyla tamamlayıcı etkisi olduğu düşünülen, tedavi sürecinde pozitif katkı sağlayacağına inanılan maddeler verilmektedir. Örneğin mide rahatsızlıklarında kullanılan prebiyotikler, ağız yolu ile alınmaktadır. Mikrobiyota ise ağız yoluyla alınan ve gastrointestinal sistem içerisinde gerçekleşen süreçlere odaklanmaktadır. Dolayısıyla mikrobiyota ve tamamlayıcı tıpta, gastrointestinal hastalıklar ile doğrudan bir ilişki olduğu ifade edilebilir.

Gastrointestinal sistem hastalıkları ile mikrobiyota arasındaki aslında doğrudan ve en temel ilişki, mikrobiyota çalışmalarında ve yöntemlerinde, gastrointestinal sistemi temel olarak alması ve pek çok hastalıkların oluşmasında, önlenmesinde ve tedavisinde beslenme üzerinden

gastrointestinal hastalıklara referans vermesidir. Gerçekten de günümüzde, yapılan birçok çalışma ve klinik araştırmada, beslenme ve gastrointestinal sistem hastalıklarının doğrudan olmasa da, kronik ve dolaylı olarak tüm vücut sistemlerini etkilediği ve birçok hastalığa sebep olduğu yönündedir.

Mikrobiyota çalışmalarında ve bu alanda yapılan araştırmalarda, aslında bireylerin belirli bir ölçüde mikrobu da bünyelerinde taşıması gerektiğine vurgu yapılmaktadır. Yararlı ve simbiyoz bakterilere karşı bütün tıp bilimlerinde bu yaklaşım desteklense de, tedavi aşamasında mikrobiyota çalışmaları ile modern tıp arasında görüş ayrılıkları başlamaktadır. Az sayıda çalışmada, antibiyotiklerin olumsuz etkilerine yönelik bulguların paylaşılmış olması, mikrobiyota savunucularının antibiyotiklerin kullanımını hepten reddetmelerine sebep olmaktadır. Oysa her ne kadar antibiyotiklerin vücut için ciddi zararları olsa da, mevcut tıp bilgi ve düzeyinde, antibiyotiklerin kullanımından doğrudan vazgeçmek gibi bir durum söz konusu değildir. Ayrıca ilaç kelime anlamı itibarıyla, “zararı yararından daha az olan” ya da “zararına değecek fayda sağlayan” madde şeklinde tanımlanmaktadır. Ancak antibiyotik kullanımı mikrobiyota için yok olma anlamına gelirken, günümüzde mikrobiyota transferinden ekimine, çeşitli alternatif çalışmalar yapılmaktadır.

Tamamlayıcı tıp mikrobiyota alanından farklı olarak, tıbbın birçok alanını içermektedir. Bu nedenle, tamamlayıcı tıpta sadece gastrointestinal hastalıklar değil, diğer alanlarda da tamamlayıcı tıbbın yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Ancak bu yöntemlerden yararlanılırken, gastrointestinal sistem üzerinden tamamlayıcı tıba yönelik malzemeler vücuda alınmaktadır. Bu aşamada, gastrointestinal hastalıkların tamamlayıcı tıba yönelik tedavi desteklerinin alımında engel teşkil edebileceği, ya da diğer bir ifadeyle, gastrointestinal hastalıkların tamamlayıcı tıbbın vücuda müdahale yöntemlerinden oral yolla alımda elektif bir role sahip olduğunu ifade etmek mümkündür.

KAYNAKÇA

- Babu N, Shankar M, Babu MN. (2016). Complementary and Alternative Medicine an Overview. *American Journal of Oral Medicine and Radiology*, 3(3), 134-145.
- Bresser LRF, de Goffau MC, Levin E, Nieuwdorp M. (2022). Gut Microbiota in Nutrition and Health with a Special Focus on Specific Bacterial Clusters. *Cells*, 11, 3091.
- Chen JDZ, Yin J, Hou X, Takahashi T. (2017). Complementary and Alternative Therapies for Functional Gastrointestinal Diseases 2016. *Evid Based Complement Alternat Med.*, 2017(1), 2089165.
- Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S (2008). Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *Am J Clin Nutr*; 88(1), 894–899
- Conrad R ve Vlassov AV. (2015). The Human Microbiota: Composition, Functions, and Therapeutic Potential. *Med Sci Rev*, 2(1), 1-13.
- Debas HT, Laxminarayan R, Straus SE. (2006). Complementary and alternative medicine.. *Journal of Family Practice*, 48(1), 66-67.
- Deniz D, Sevimli E, Ünlü TN. (2021). An overview of traditional and complementary medicine initiatives and strategies. *Sağ Aka Derg*, 8(1), 85-89.
- Erdoğan Z, Akıncı AÇ, Yavuz DE, Tosun ZK ve Atik D. (2017). Use of Complementary and Alternative Medicine Methods Among Elderly People Living in Nursing Homes. *Kafkas J Med Sci*, 7(1), 60–66.
- EU (2018). The Human Gut Microbiota. *European Commission*, JRC F7 - Knowledge for Health and Consumer Safety.
- Karatay, E. (2019). Mikrobiyota, probiyotik ve prebiyotikler. *Anadolu Güncel Tıp Derg*, 1(3), 68-71.
- Koretz RL, Rotblatt M. (2004). Complementary and alternative medicine in gastroenterology: the good, the bad, and the ugly. *Clin Gastroenterol Hepatol.*, 2(11), 957-67.
- Kovatcheva-Datchary P, Tremaroli V. and Backhed F. (2013). *The Gut Microbiota*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Liu, Q., Mak, J. W. Y., Su, Q., Yeoh, Y. K., Lui, G. C., Ng, S. S. S., Zhang, F., Li, A. Y. L., Lu, W., Hui, D. S., Chan, P. K., Chan, F. K. L., & Ng, S. C. (2022). Gut microbiota dynamics in a prospective cohort of patients with post-acute COVID-19 syndrome. *Gut*, 71(3), 544–552.
- Mangiola, F., Nicoletti, A., Gasbarrini, A., & Ponziani, F. R. (2018). Gut microbiota and aging. *European review for medical and pharmacological sciences*, 22(21),

7404–7413.

- Pace, O. (2012). Complementary and alternative medicine - facts and figures (Part I). *The Journal of the Malta College of Family Doctors*, 1(1), 18-25.
- Pal, SK. (2002). Complementary and alternative medicine: An overview. *Current Science*, 82(5), 518-524.
- Son CG, Bian ZX, Wang JH, Raghavendran HB. (2013). Complementary and alternative medicine for diseases and disorders in digestive tract: basic to clinics. *Evid Based Complement Alternat Med.*, 2013:565279.
- Tillisch, K. (2007). Complementary and alternative medicine for gastrointestinal disorders. *Clin Med*, 7(1), 224–227.

KISALTMALAR DİZİNİ

- AA Araşidonik Asit
ACC2 Asetil-CoA karboksilaz β
ADIPOQ Adiponektin
ADIPOR1 Adiponektin Reseptörü
CAPN10 Kalpain 10
COMT Katekol-ometiltransferaz
DCIS Duktal Karsinoma
DNMT DNA Metiltransferaz
EDC Endokrin Bozucu Kimyasal
EPA Eikosapentaenoik Asit
FTO Obezite ile İlişkili Gen
GCK Glukokinaz
GWAS Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları
HAT Histon Asetiltransferaz
HDAC Histon Deasetilaz
HFHSD Yüksek Şekerli Diyet
HNF-1A Hepatik Nükleer Faktör 1a
HNF-1 β Hepatik Nükleer Faktör 1 β
HNF-4a Hepatik Nükleer Faktör 4a
IPF-1 İnsülin Promotör Faktör-1
KKH Koroner Kalp Hastalığı
LEP Leptin
LEPR Leptin Reseptörü
MC4R Melanokortin-4 Reseptörü
MetS Metabolik Sendrom
NEUROD1 Nöro D1 Transkripsiyon Faktörü
PKU Fenilketonüri
PLIN Perilipin
POMC Pro-Opiomelanokortin
PPAR γ Peroksisom Proliferatör ile Aktive Olan Reseptör-y
PUFA Çoklu Doymamış Yağ Asidi
RAS Renin Anjiyotensin Sistem
SAH S-Adenosil Homosistein
SAM S-Adenosil Metiyonin
SCARB1 Çöpçü Reseptör Sınıf B Tip 1
SFA Doymuş Yağ Asidi
SNP Tek Nükleotid Polimorfizmi
T2DM Tip 2 Diyabet
TCF7L2 Transkripsiyon Faktörü 7-Like 2

4. BÖLÜM

EPIGENETİK & NÜTRİGENETİK BESİN / GEN İLİŞKİSİ

Dr. Öğretim Üyesi Özkan DURU
Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı,
ORCID - 0000-0002-8792-442X,
ozkanduru@kku.edu.tr

Uzman Diyetisyen Gülay SENCAR
T.C. Sağlık Bakanlığı Kırıkkale Yüksek İhtisas Hastanesi,
ORCID 0000-0003-3741-6491,
gsencar@hotmail.com

GİRİŞ

Genetik ve besin etkileşimi tüm hastalıkların bireysel temelinde yer almaktadır. Genler bir hastalığa yatkınlık ile diyet ve egzersiz gibi çevresel faktörlerin bireysel duyarlılık çerçevesinde hangi hastalıkların gelişebileceğine dair tanımlamaları içermektedir (Simopoulos ve Ordovas 2004). Nutrigenetik terimi, Brennan tarafından 1975 yılında “Nutrigenetics: Hipoglisemiyi Rahatlatmak İçin Yeni Kavramlar” adlı kitabında tanımlanmıştır (Brennan ve Mulligan 1975). Nutrigenetik, bireylerin besin maddelerine karşı verdiği tepkiyi etkileyen genetik farklılıkların incelenmesidir. Bireylerin sahip oldukları genetik farklılıkların diyet-hastalık ilişkisi üzerindeki etkisini araştırır. Nutri-genetik sağlığın geliştirilmesi ile kronik hastalıkların önlenmesi ve yönetimi için genotipe bağımlı yeni gıdaların geliştirilmesini sağlayabilir (Zeisel 2008).

Beslenme ve genler arasındaki etkileşimi aydınlatmak ve diyetin kişiselleştirilmesi yoluyla sağlığı optimize etmek için nutrigenomik ve nutrigenetik ortaya çıkmıştır. Nutrigenetik bireylerin genlerinden kaynaklanan farklılıklar nedeniyle besinlere verdikleri farklı tepkiler iken nutrigenomik bu ilişkiyi inceleyen bilim dalıdır. Beslenme molekülleri, genetik polimorfizmler ve bir bütün

olarak biyolojik sistem arasındaki karmaşık ilişkiyi çözmek nutrigenomiğin alanıdır. Nutrigenomik bilimi, bir bütün olarak beslenme metabolizmasında, genomdan fenotipe çok yönlü moleküler reaksiyonların araştırılmasına olanak sağlamaktadır. Besinlerin gen ifadelerindeki rolünü araştıran bir beslenme dalı olarak da tanımlanabilir (Mutch vd., 2005).

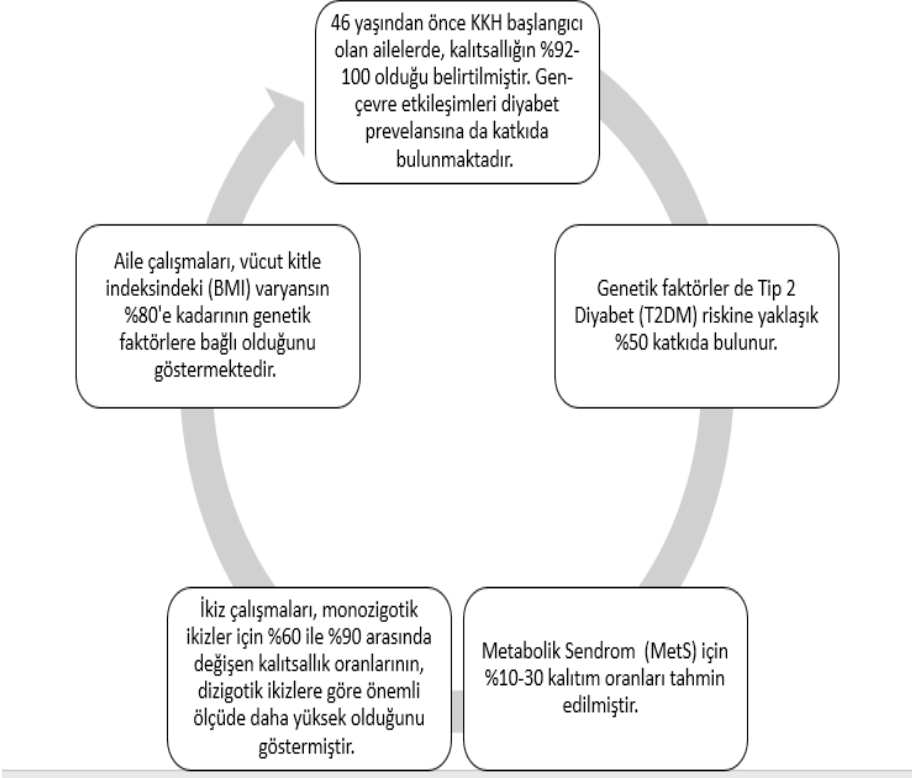
Nutrigenomik ve nutrigenetik terimleri aynı gibi düşünülse de arasında farklılıklar bulunmaktadır. Nutrigenomik, besin maddelerinin ve beslenme ile yaşam tarzının genom ile etkileşimi, besinlerin metabolik yolları, gen ekspresyonunu nasıl etkilediğini ve beslenme ile ilişkili hastalıklarda bu süreçlerde nelerin yanlış gittiğini belirler. Nutrigenetik ise bireylerin besin maddelerine verdikleri yanıtı etkileyen bireysel genetik farklılıkların inceler. Beslenme genomiği, besinlerin genom, proteom ve metabolom üzerindeki etkilerini araştıran nutrigenomikleri ve temel amacı genetik varyasyonun diyet ve hastalık arasındaki etkileşim üzerindeki etkisini aydınlatmak olan nutrigenetiği kapsar. Her bireyin genotipinin farklı olduğu göz önüne alındığında aynı besin maddelerinin tüketiminden bireyler farklı şekillerde etkilenebilirler. Alınan besin miktarı bazı bireyler için risk oluştururken, bazıları için bu durum söz konusu değildir. Kimi bireye yarar sağlarken kiminde yararlı olmayabilmektedir. Nutrigenetik, fenilketonüri gibi bazı nadir monogenik hastalıklarda yıllardır kullanılmaktadır ve yaygın multifaktöriyel bozuklukları klinik bulgularından önce önlemek için bireyin genetik yapısına dayalı kişiselleştirilmiş diyet önerileri sağlama potansiyeline sahiptir (Ordovas ve Mooser 2004).

2. NÜTRİGENETİK İLİŞKİLİ HASTALIKLAR

Günümüzde yapılan çalışmalar sonucu, diyet, genler ve hastalıklar arasında sıkı bir ilişki gözlemlendiği ortaya çıkmıştır. Besinler, bozulabilecek moleküler yolları modüle etmek için insan genomu ile etkileşime girer ve bu da çeşitli kronik hastalıkların gelişme riskinin artmasına neden olur. Genetik polimorfizmler, diyet faktörlerinin metabolizmasını etkiler ve bu da bir dizi önemli metabolik süreçte yer alan genlerin ekspresyonunu etkiler. Şimdiye kadar yaklaşık 1000 genin hastalıkla olan ilişkisi ortaya konulmuştur. Besin metabolizmasını etkileyen genetik polimorfizmler, beslenmeyi kanser, diyabet, romatoid artrit, osteoporoz ve kardiyovasküler hastalık gibi kronik hastalıklar ve ülseratif kolit, chron, laktoz intoleransı ile ilişkilendirilebilmektedir. Gene-

tik varyasyonların besin sindirimini, absorpsiyonunu, taşınmasını, biyotransformasyonunu, alımını ve eliminasyonunu nasıl etkilediğini anlamak, alınan biyoaktif gıda bileşenlerine daha doğru ölçüde yaklaşımı sağlayacaktır. Re-septörler, enzimler veya taşıyıcılar gibi besin etkisinin hedeflerindeki genetik polimorfizmler, diyet müdahalelerine verilen fizyolojik yanıtı etkileyen moleküler yolları değiştirebilir. Bir dizi diyet faktörünün bu genlerin ekspresyonunu değiştirdiği ve bunun sonucunda antioksidanlar, vitaminler, fitokimyasallar, kafein, steroller, yağ asitleri ve alkol gibi diyet faktörleri de dahil olmak üzere çok çeşitli yabancı kimyasalları metabolize ettiği bilinmektedir. Bu diyet faktörlerine yanıt olarak değişkenliğin genetik temelini bilmesi, ilgili hedef dokuların bu bileşiklere ve bunların metabolitlerine maruz kalmasının sonuçlarını daha doğru yorumlamayı sağlayacaktır (El-Sohemy 2007).

Koroner kalp hastalığı (KKH), diyabet, hipertansiyon, kanser, metabolik sendrom ve diğer kronik hastalıklar genel nüfusa göre aileler arasında risk göstermektedir. Aileler hem genleri hem de benzer çevreyi paylaştıklarından riskin iki faktörden de kaynaklandığı düşünülmektedir. 46 yaşından önce KKH başlangıcı olan ailelerde, kalıtsallığın %92-100 olduğu belirtilmiştir (Griffiths vd., 2005). Gen-çevre etkileşimleri diyabet prevalansına da katkıda bulunmaktadır. Aile çalışmaları, vücut kitle indeksindeki (BMI) varyansın %80'e kadarının genetik faktörlere bağlı olduğunu göstermektedir. Genetik faktörler de Tip 2 Diyabet (T2DM) riskine yaklaşık %50 katkıda bulunur. Metabolik Sendrom (MetS) için %10-30 kalıtım oranları tahmin edilmiştir. Ayrıca, ikiz çalışmaları, monozigotik ikizler için %60 ile %90 arasında değişen kalıtsallık oranlarının, dizigotik ikizlere göre önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla bireyler arasındaki genetik farklılıkların da obezite, MetS ve T2DM geliştirme riskinde rol oynadığı açıktır (Bellia vd., 2009). Monogenik bozukluklar, tüm obezite ve diyabet vakalarının %5'ini oluşturmaktadır.



Şekil 2.1. Kronik hastalıkların genetik yatkınlıkla ilişkili oranları

Son 15-20 yılda, leptin (LEP), leptin reseptörü (LEPR), pro-opiomelanokortin (POMC) ve melanokortin-4 reseptörü (MC4R) dahil olmak üzere bir dizi gendeki mutasyonlar, monogenik obezite ile ilişkilendirilmiştir (Andreasen ve Andersen 2009). Altı gen, diyabetin monogenik formlarının çoğunluğundan sorumludur: hepatik nükleer faktör 4a (HNF-4a), glukokinaz (GCK), hepatik nükleer faktör 1a (HNF-1a), insülin promotör faktör-1 (IPF-1), hepatik nükleer faktör 1β (HNF-1β) ve nöro D1 transkripsiyon faktörü (NEUROD1) (Gloyn 2003). Bununla birlikte, çoğu birey için metabolik hastalığa genetik yatkınlığın poligenik bir temeli vardır. Hastalığa zemin hazırlayan varyantlarla kombinasyon halinde büyük bir fenotipik etkinin ortaya çıktığını düşünülmektedir. Ek olarak bir bireyde bu koşullarla ilgili belirli poligenik varyant setlerinin başka bir bireyde aynı olmayabilir. Herhangi bir karmaşık özellik ile ilişkili genlerin tanımlanması, genom çapında bağlantı analizi, genom çapında ilişkilendirme çalışmaları

ları (GWAS) kullanılarak bir dizi deneysel sonuçlara ulaşılmıştır. GWAS çalışması ile birkaç farklı etnik gruptaki genom taraması, T2DM ve obezite duyarlılık genlerini barındıran bir dizi kromozom bölgesi tanımlamıştır. Kalpain 10 (CAPN10), genom çapında tanımlanan ilk T2DM duyarlılık genidir (Horikawa vd., 2000). Genetik ve fonksiyonel veriler, CAPN10'un insülin direncinde ve ara fenotiplerde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Sáez vd., 2008). CAPN10 varyantları, hipertrigliseridemi, BMI ve hipertansiyon dahil olmak üzere çeşitli MetS fenotipleriyle de ilişkilendirilmiştir (Carlsson vd., 2004). Son altı yılda GWAS, çoğu obezite ve diyabetle ilgili yeni olan 50'den fazla gen tanımlamıştır. Şimdiye kadar bilinen en önemli T2DM duyarlılık geni olarak transkripsiyon faktörü 7-like 2 (TCF7L2) tanımlanmıştır. TCF7L2 genindeki tek nükleotid polimorfizmi (SNP), büyük olasılıkla kusurlu beta hücre fonksiyonu ve bozulmuş insülin sekresyonu yoluyla artan T2DM riski ile ilişkilendirilmiştir (Florez vd., 2006). TCF7L2 polimorfizmleri, dislipidemi ve bel çevresi gibi MetS bileşenleriyle de ilişkilendirilmiştir (Warodomwicht vd., 2009). TCF7L2'nin tanımlanmasının ardından, yağ kütlesindeki önceden bilinmeyen genetik varyantlar ve kromozom 16 üzerindeki obezite ile ilişkili gen de (FTO) BMI üzerindeki bir etki yoluyla T2DM riskine bağlanmıştır (Frayling vd., 2007). FTO geni rs9939609 "risk" A aleli için homozigot olan yetişkinlerin %16'sı, homozigot risksiz alel taşıyıcılarına göre 3 kg daha kilolu olmuş ve obezite riskinde 1.7 kat yüksek risk göstermiştir. En az bir risk aleli olan bireyler tarafından bildirilen tokluk bozukluğu, daha fazla gıda alımı ve daha sık yeme kontrolü kaybının, artan obezite riskinden sorumlu olabileceği öne sürülmüştür (Tanofsky-Kraff vd., 2009). FTO rs9939609 obezite ile ilişkili en önemli gen varyantlarından biri olarak kabul edilmektedir (Povel vd., 2011).

Obezite, uzun vadeli kilo yönetimini iyileştirmek amacıyla bir bireyin diyetini kişiselleştirmek için nutrigenetiğin nasıl kullanılabileceğinin bir örneğidir. Arkadianos ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada kilo kaybı öyküsü olan deneklerde, genel diyet ve egzersiz alan kontrol denekleriyle karşılaştırıldığında, metabolizmayla ilgili 19 gendeki 24 SNP'ye dayanan kişiselleştirilmiş kalori kontrollü diyet ve egzersiz programını takiben kilo kaybını ve kilo kaybını incelemiştir. Bu çalışma, nutrigenetik olarak uyarlanmış diyetin daha iyi uyum sağladığını, glikoz seviyelerinde iyileşmeler sağladığını ve sadece kilo verme döneminde değil, aynı zamanda sonraki yıl

boyunca da BMI azalmasını sağladığını göstermiştir (Tapueru-French 2009). “Tutumlu genotip” hipotezine göre, başlangıçta enerji depolaması için faydalı olan ve gıda yoksunluğu zamanlarında yağ birikimini teşvik ederek koruyucu bir etki sağlayan genlerin (obezite genleri) evrimsel seçimi açıklanmaktadır. Çevresel etmenler olarak modern batılılaşmış toplumlarda fiziksel hareketsizlik ve aşırı kalori tüketimi ortamında artan obezite insidansına ek olarak obezite ve T2DM’nin Pima Kızılderilileri, Pasifik Adalıları, Afro-Amerikalılar ve Hispanik-Amerikalılar gibi belirli etnik gruplarda salgın oranlara ulaştığına dair son bulgular desteklenmektedir (Wild vd., 2004). Beslenme, yaygın poligenik, diyetle bağlı metabolik durumların patogeneğinde ve ilerlemesinde önemli bir çevresel faktördür. Gen-diyet etkileşimi kavramı, genotipin belirli bir fenotip üzerindeki etkisinin diyet modülasyonunu (örneğin obezite, insülin direnci ve dislipidemi) ve/veya bir diyet faktörünün belirli bir fenotip üzerindeki etkisinin bir genetik varyant tarafından modülasyonunu tanımlar. Diyet değişikliklerinin plazma biyobelirteç konsantrasyonları üzerindeki etkisinin bireyler arasında önemli ölçüde farklılık gösterdiği kabul edilmektedir. Diyet değişikliğine yanıt olarak bu tür bireyler arası değişkenlik, genetik faktörler tarafından belirlenir. Diyet yağı önemli bir çevresel faktördür ve obezite ile ilgili olarak nütrigenetik kavramını destekler. MetS ve T2DM büyük ölçüde diyet yağı ile ilgili verilere dayanmaktadır (Phillips vd., 2008). Karbonhidrat veya lif gibi diğer gıda bileşenleri de bu koşulların gelişmesinde rol oynayabilir. PPAR γ Pro12Aa polimorfizmi, obezite, MetS ve T2DM gelişiminde gen-besin etkileşimlerinin bir örneğidir. Prospektif popülasyona dayalı bir kohort çalışmasında araştırmacılar alışılmış diyet yağ bileşimi ile SNP arasında önemli bir etkileşim olduğunu göstermiştir (Luan vd., 2001). Toplam çoklu doymamış yağ asidinin (PUFA) doymuş yağ asidine (SFA) oranı arttıkça Pro-12Aa taşıyıcılarında hem açlık insülin konsantrasyonları hem de BMI için önemli bir ters ilişki göstermiştir. Pro12Aa alelinin potansiyel koruyucu etkisinin yüksek SFA diyetinin varlığında kaybolabileceğini görülmüştür (Scacchi vd., 2007). Diyabet Önleme Programı ve Diyabet Önleme Çalışmasından elde edilen veriler, yaşam tarzı veya çevresel faktörlerin TCF7L2 polimorfizmlerinin genetik etkilerini modüle edebileceğini göstermektedir. Diyabet Önleme Çalışmasında, bozulmuş glikoz toleransı olan aşırı kilolu bireyler, yoğun bir diyet ve yaşam tarzı müdahale grubuna veya kontrol grubuna ayrılmıştır. Ortalama 4 yıllık bir takip döneminden sonra, TCF7L2 polimorfizmlerinin kontrol

grubunda diyabet insidansı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Warodomwicht vd., 2009). LIPGENE diyet müdahale çalışmasında, TCF7L2 SNP'ler plazma lipid konsantrasyonları, karbonhidrat metabolizması, kan basıncı ve inflamatuvar belirteçlerle ilişkilendirilmiştir. rs11196224 majör homozigotlar arasında yüksek plazma SFA'sı, artan insülin direnci ile ilişkilendirilmiştir (Delgado-Lista vd., 2011). FTO rs9939609 genotipine göre diyet faktörlerinin BMI üzerindeki etkisinin sınırlı kesit analizi, yüksek yağlı diyetlerin obezite riskini artırdığını göstermektedir. Bununla birlikte, bu çalışmalar diyetteki yağ tipinin veya yağ asidi kompozisyonunun spesifik etkilerini araştırmamıştır. 354 çocuk üzerinde yapılan bir çalışmadan elde edilen son veriler, diyetle alınan SFA ile toplam PUFA'nın SFA'ya oranı ve FTO rs9939609 ile ilişkili obezite arasında bir etkileşim tanımlamıştır (Moleres vd., 2012). Yetişkin Avrupa popülasyonunda homozigotlar, obeziteye genetik yatkınlığın diyetle SFA alımı ile modüle edilebileceğini düşündürmektedir. GOLDN çalışmasından elde edilen son veriler ayrıca rs9939609 ile SFA alımı arasında bir etkileşim tanımlamıştır (Corella vd., 2011).

Dislipidemi, obez veya MetS fenotipinin en erken belirtilerinden biridir ve sıklıkla insülin ve glukoz homeostazındaki metabolik bozukluklardan önce gelir. Dislipidemik durum hepatik ve lipoprotein lipazlar, glukokinaz düzenleyici protein, yağ asidi bağlayıcı proteinler, mikrozomal trigliserit transfer proteini, peroksizom proliferatör ile aktive olan reseptör- γ (PPAR γ), *çöpçü reseptör sınıf B tip 1* (SCARB1) ve perilipin (PLIN)'in TCF7L2 gen varyantından kaynaklanmaktadır. Lipide duyarlı transkripsiyon faktörü PPAR γ Pro12Ala polimorfizmi, T2DM riski için en yaygın şekilde çoğaltılan genetik varyasyon olarak tanımlanmaktadır (Florez vd., 2003). Pro12Pro genotipi için diyabet riskinde 1.25 kat bir artışı doğrulayan bir meta-analiz çalışmasında Pro12Pro genotipi ayrıca, 12Ala taşıyıcılarına kıyasla Pro12Pro homozigotlarında 3 kat artan T2DM riski ile bozulmuş glukoz toleransından T2DM'ye dönüşümü ilişkilendirilmiştir (Andrulionyte vd., 2004). Obez deneklerde diyabet riski, Pro12 alel taşıyıcıları arasında neredeyse iki katına çıkmıştır (Ghossaini vd., 2005). Yapılan *çalışmalar*; *tümör nekroz faktör alfa* (TNF α) (rs1800629) ve interlökin 6 (IL-6) (rs1800795 ve rs1800797) dahil olmak üzere çeşitli proinflamatuvar sitokin polimorfizmlerinin merkezi obezite, diyabet ve MetS riskindeki etkisini göstermiştir. TNF- α rs1800629 majör G allel homozigotları ve lenfotoksin- α (LTA) rs915654 minör A allel taşıyıcıları %20-40 daha yük-

sek MetS riskini oluşturmuştur. Aynı zamanda IL-6 rs1800797 G aleli için homozigot olan risk genotipi taşıyıcıları, en çok MetS (OR 2.10), açlık hiperglisemisi (OR 2.65) ve abdominal obezite (OR 1.52) geliştirme riski göstermiştir (Phillips vd., 2010a). STAT3 genindeki yaygın genetik varyantlar, yakın zamanda artan abdominal obezite riski ile ilişkilendirilmiştir (Phillips vd., 2009). LIPGENE çalışmasına göre risk allellerinin sayısı ile abdominal obezite riski arasında önemli bir genotip etkisi tanımlanmış ve iki veya daha fazla risk alleli taşıyan bireylerde bir veya hiç taşımayan bireylere kıyasla yaklaşık 2,5 kat daha yüksek risk görülmüştür (Weedon vd., 2006). Doğuştan gelen bağışıklık sisteminde merkezi bir role sahip bir protein olan tamamlayıcı bileşen yüksek C3 konsantrasyonları, insülin direnci, obezite, MetS ve diyabet ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca C3 genindeki yaygın genetik varyantların MetS ve dislipidemi, abdominal obezite ve insülin duyarlılığı dahil olmak üzere fenotiplerinin riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Engstrom vd., 2005). Son yıllarda yağ dokusu, hormonal olarak aktif önemli bir organ olarak kabul edilmiştir. Adipositokinler adiponektin ve leptinin kardiyovasküler ve metabolik homeostazda önemli roller oynadığı düşünülmektedir. Adiponektin (ADIPOQ) genindeki ve reseptörlerindeki (ADIPOR1) polimorfizmler adiponektin seviyeleri, insülin direnci ve MetS fenotipleri ile ilişkilendirilmiştir. Leptin reseptörü (LEPR) rs3790433 G aleli için homozigotluk artmış insülin konsantrasyonları ve insülin direnci riski ile açıklanabilecek artan MetS riski ile sonuçlanmıştır (Phillips vd., 2010b).

Asetil-CoA karboksilaz β (ACC2), yağ asidi sentezi ve oksidasyon yollarında kilit rol oynar ve bozulması, bozulmuş insülin duyarlılığı ve MetS ile ilişkilidir. LIPGENE çalışması, birkaç ACC2 polimorfizminin (rs2075263, rs2268387, rs2284685, rs2284689, rs2300453, rs3742023, rs3742026, rs4766587 ve rs6606697) MetS riskini etkileyip etkilemediğini ve diyetdeki yağ asitlerinin bu etkileşimi modüle edip etmediğini incelemiştir. rs4766587'nin Minör A alel taşıyıcıları, kısmen artan BMI, abdominal obezite ve bozulmuş insülin duyarlılığı ile açıklanabilen GG homozigotları ile karşılaştırıldığında MetS riskinde artışa (OR 1.29) neden olmuştur. Diyetle alınan yağ alımı MetS riskini modüle etmiş, A aleli taşıyanlarda risk, yüksek yağ alımı (>%35 enerji) olan bireylerde şiddetlenmiştir (OR 1,62) (McGarry 2002). rs9997745 SNP için GG genotipine sahip denekler, A aleli taşıyan deneklere kıyasla MetS riskinde artış göstermiştir (OR 1.90). Yüksek açlık

glikozu ve insülin konsantrasyonları ve artan insülin direnci göstermiştir. Etnik gruplar arasındaki alel frekans farklılıklarını inceleyen HAPMAP verilerine göre Asya popülasyonunda, toplam PUFA'dan fakir bir diyet varlığında herkesin "risk" aleli taşıdığı ve özellikle MetS riski altında olabileceği düşünülmüştür. ACSL1 rs9997745, büyük olasılıkla diyet yağ tüketimi ile modüle edilen yağ asidi metabolizmasındaki bozukluklar yoluyla MetS riskini etkiler. APOA1, HDL'nin ana protein bileşenidir ve ayrıca ters kolesterol taşınmasının önemli bir bileşeni olan lesitin-kolesterol açıltransferaz (LCAT) enziminin bir aktivatörüdür. Buna karşılık, LDL'nin ana bileşeni olan plazma APOB, trigliseritten zengin lipoproteinlerin salgılanması için esastır. LIPGENE çalışmasında, ApoB rs512535 ve ApoA1 rs670 majör G alel homozigotları MetS riskini artırmıştır (sırasıyla OR 1.65 ve OR 1.42). Bu durum artmış abdominal obezite ve bozulmuş insülin duyarlılığı ile açıklanmaktadır (Phillips vd., 2011). Yüksek MUFA alımı olan deneklerde rs17300539 A alel taşıyıcıları daha düşük BMI göstermiş ve obezite riskini azaltmıştır. Diyet müdahale analizi, rs266729 için CC homozigotlarının, SFA açısından zengin diyete kıyasla MUFA ve karbonhidrattan zengin diyetlerin tüketilmesinden sonra insüline daha az dirençli olduğunu göstermiştir. Ayrıca LIPGENE diyet müdahale çalışmasında iki SNP (ADIPOQ'da rs266729 ve ADIPOR1'de rs10920533) insülin ve HOMA-IR'yi değiştirmek için plazma SFA'ları ile etkileşime girmiştir. Bu çalışma, plazma SFA'sındaki bir azalmanın, rs266729 ADIPOQ ve rs10920533 ADIPOR1'in minör alelinin taşıyıcılarında insülin direncini azalttığını göstermiştir. Bu verilere dayalı kişiselleştirilmiş beslenme tavsiyesi, rs266729 ADIPOQ ve/veya rs10920533 ADIPOR1 minör allelini taşıyan MetS deneklerinin diyetlerinde SFA tüketiminin azaltılması faydalı olacaktır (Pérez-Martínez vd., 2008).

Fenilketonüri (PKU), gen-diyet etkileşiminin tanımlandığı ilk genetik hastalıktır. Bu durum, monogenik bir hastalığa genetik yatkınlığı yönetmek için tek bir besinin nasıl kullanılabileceğinin iyi bir örneğidir. PKU'lu kişiler, süt ürünleri, et, balık, kabuklu yemişler ve bakliyalarda bulunan temel bir amino asit olan fenilalanin'i metabolize etmek için gerekli enzimden yoksundur ve bunun sonucunda beyin için toksik olan tehlikeli fenilpiruvik asit seviyeleri oluşabilir (Greco vd., 2002). Hiperfenilalanineminin (HPA) nörotoksik etkisi sonucu doğum sonrası bilişsel gelişimi bozmaktadır. Fenilalanin hidroksilaz geninde (PAH) L-fenilalanin hidroksilaz enzimini kodlayan 12q23.2 kromo-

zomu üzerinde mutasyonların (> 500 alel) meydana getirdiği genetik bir hastalıktır. Diyetset olarak fenilalanini metabolize eden hayvansal besinler bu nedenle kısıtlanmaktadır (Scriver 2007).

3. BESİN GEN ETKİLEŞİMİ

Beslenme, hastalığın patogeneğinde veya ortaya çıkışında doğrudan veya dolaylı bir rol oynayabilir. Besin ve gen etkileşimi bazen bazı ölümcül sonuçlardan sorumlu olabilir. Üstelik bu sonuçlar farklı bireylerin belirli besin gereksinimlerinde farklılık göstermektedir. Farklı bireyler arasında diyet farklı tepkilerden sorumlu olan heterojenlik insan genomunun dizilişinde bulunan ve genetik farklılık açısından önemli bir noktadır (Vohl vd., 2013).

Genlerin ve vücuttaki besinler ile moleküler olarak ilişkili olması nutrigenetik iken bu etkiler transkript profilindeki değişiklikler düzeyinde (transkriptomik), metabolitler düzeyinde (metabolomik) ve proteinler düzeyinde (proteomik) olabilir. Gen ifadesi metabolik yanıtı tanımlayarak bireylerin sağlık durumlarını ve hastalığa yatkınlığını etkiler. Gıda bileşenleri sadece sağlığı etkilemez aynı zamanda metabolizmayı, hücreyi ve organları da etkiler. Nutrigenomik iki gözleme dayanmaktadır: (1) besinlerin gen ekspresyonundaki etkileri (2) bireylerin genotipleri arasında farklılık gösteren besin metabolizması. Bu nedenle nutrigenomik, hastalık önleme ile birlikte gıda ve beslenmeyi kişiselleştirmede, bireyin genotiplerinin yanı sıra gen ve beslenme ortamını da içermektedir (Riscuta 2016).

Epidemiyolojik verilere göre kanserin büyük bir kısmı önemli ölçüde yaşam tarzı ve diyetle ilişkilidir. Kanser ölümlerinin üçte biri yüksek vücut kitlesi indeksi, daha az sebze ve meyve tüketimi, tütün ve alkol kullanımı gibi diyetset ve davranışsal risklerden kaynaklanmaktadır. İsveç'te yürütülen bir vaka kontrol çalışmasında, somon tüketimi ile kanser arasındaki ilişki, n-3 doymamış yağ asitlerinin COX-2 üzerine kalıtsal bir varyasyon ile prostat malignitesi üzerinden açıklanmıştır. Heterozigot veya homozigotlar arasında COX-2'nin +6365T/C SNP varyant alelinin yüksek somon balığı tüketimi ile arttığı ve bu şekilde prostat kanseri riskinde azalma sağladığı görülmüştür (Stefanska vd., 2010).

800'den fazla polifenol mevcuttur. Yeşil çay, tarçın, zerdeçaldan kurku-

min, üzümünden resveratrol en bilinen polifenollerdir. Epigallokateşin, insanlarda yaygın faydaları bulunan polifenollerdir. Epigallokateşin ve EPC 3 galat'ın kanseri önlemek üzere mekanizması DNA metilasyonunu üzerindedir. DNA metiltransferazı (DNMT) inhibe eder ve histonları değiştirir. Katekol molekülleri katekol-ometiltransferaz'ı (COMT) inaktive ederler. COMT enzimi S-adenosil metiyonine bir metil grubu aktarır. Metil grubu bağlandıktan sonra SAM, S-adenosil Homosistein (SAH) olarak adlandırılır. SAH bir güçlü DNA metiltransferaz inhibitörü olarak görev yapar (Ullah vd., 2016). Metilasyon genlerin susturulmasından sorumlu EPGC susturulmuş genleri doğrudan DNMT ile etkileşime girer. EPGC çalışmaları ile süre ve doza bağlı özofagus kanseri hücresinde DNMT aktivitesinde azalma, hMLH1, p16, RARb ve MGMT genlerinde metilasyon restorasyonu arasındaki ilişkiye bağlanmıştır (Rady vd., 2018).

Hayvan çalışmalarında yeşil çayın prostat kanseri hücrelerini tedavi ettiği gösterilmiştir. MMP9, MMP2, VEGFA ve PI3K dahil olmak üzere tümör belirteçlerinde önemli azalmalar görülmüştür (Nasir vd., 2022). İnsan prostat kanseri çalışmalarında, yeşil çay polifenollerine LNCap hücrelerinin eklenmesi GSTP1 genlerinin yeniden ekspresyonunu sağlamıştır. GSTP1, H2O2 tarafından üretilen reaktif oksijen türleri nedeniyle oluşan DNA hasarını önlemektedir (Guo vd., 2017). Çok sayıda çalışma göstermiştir ki kurkumin, DNMT'ye kovalent olarak bağlanarak etkisini inhibe eder. Hipometilasyon ajanı olan kurkumin protoonkogenler ve prometastatik gen aktivitesini inaktive eder. Geniş genom analizi hastalıkların önlenmesinde önlenmesinde kurkuminin rolünü göstermiştir. Zaman ve doza bağlı alımına bağlı kolon kanserinin metilasyon aktivitelerini değiştirme yeteneği çalışmalarla görülmüştür (Khan vd., 2018). Apigenin, birçok meyve ve sebzede bulunan bitki flavonudur (4, 5, 7-trihidroksiflavon). Maydanoz, kereviz ve kurutulmuş papatya çiçekleri bol miktarda apigenin içerir. Apigenin kanserli hücre genleri etkileşimi ile bilinen güçlü bir antikanser ajandır. Çeşitli araştırmalar göstermiştir ki apigenin, MMP-9, siklinD1'in ekspresyonunu engeller. Apigenin, meme dahil olmak üzere hepatoma, deri, tiroid, prostat ve lösemi gibi çeşitli kanserli hücrelerde, iNOS ve COX-2'yi inhibe edip apoptozu indükleyerek kanseri önler. Shankar ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, TRAMP farelerinde 20 hafta boyunca 20 ve 50 mikrogram apigenin ile beslenmenin NF-jB'nin aktivasyonunu inhibe ederek ROS oluşumunu ve mitokondriyal hasarı

önleyerek prostat kanserinde azalmaya neden olmuştur (Shukla vd., 2015). Çeşitli araştırmalar Resveratrol ile tedavi edilen BRCA1 promotörü hücrelerde DNMT1 metilasyonlarının restorasyonunu göstermiştir. (Khan vd., 2018). Prostat hücrelerinde genistein, p16 ve p21 dahil olmak üzere tümör baskılayıcı genlerin histon ve promotör metilasyonunu baskılar (Shankar, Montellano ve Gupta 2016b). Benzer şekilde meme malignite hücreleri üzerinde yapılan çalışmalar da düşük doz genistein (3.125 IM) ile tedavi edilen böbrek ve prostat hücreleri GSTP1 genlerinin promotörünün demetilasyonuna neden olur (Shankar vd., 2016).

Mineraller ve vitaminler insan vücudunun önemli bir parçasıdır ve besinler ile vücuda alınırlar. Hem mineral hem de vitaminler metabolizmaya dayalı reaksiyonlarda düzenleyici ve kofaktör olarak önemli rol oynarlar. En iyi örnek, normal kan homosistein düzeylerinin korunmasından sorumlu folik asitten metilentetrahidrofolat metabolizmasıdır. S-adenosil metiltransferazdan metil grubunun DNMT geninin DNA'daki belirli bölgelere transferini katalize eder. Folik asit, vitamin B12, B6, kolin metilasyona karşı koruma sağlayan önemli vitaminlerdir ve kullanımları ile akciğer hücrelerinde koruyucu etkileri yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Stidley vd., 2010). Fındık ve sığır eti içinde bol miktarda bulunan selenyum epigenetik mineral olarak kabul edilmektedir. Selenyumun antioksidan etkisi ve DNA onarım mekanizması nedeniyle antikanser özelliklere sahip olmasının yanı sıra pro-apoptotik yeteneği bulunmaktadır. Se, prostat kanserinde DNA demetilasyonunu ve GSTP1 genlerinin histon deasetilaz aktivitesini azaltır. Hayvan çalışmaları Se'nin kolon ve karaciğer kanserini önlemedeki etkisini göstermiştir. Benzer şekilde, Çinko bir kofaktör olarak önemli bir mineraldir. Oksitlenmiş guanin genlerinin uzaklaştırılmasından ve DNA onarımından sorumludur. Magnezyum da benzer şekilde çeşitli DNA polimerazların kofaktörü olarak görev almaktadır (Fenech 2008).

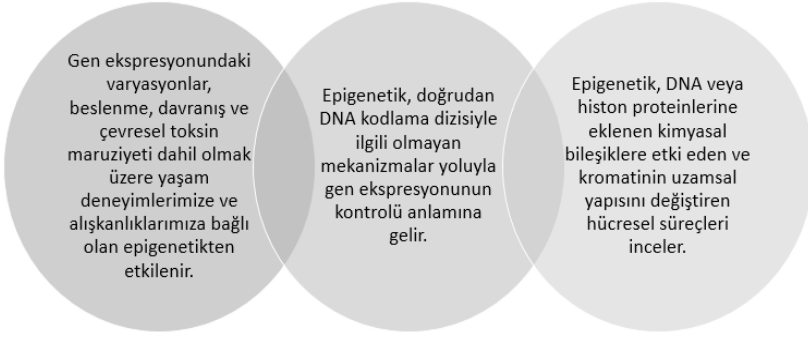
4. EPIGENETİK

Epigenetik terimini ilk kez 1942’de Conrad Waddington gen-çevre etkileşimleri ile genetik ve sitoplazmik elementlerin ortaya çıkardıkları fenotipler olarak tanımlamıştır. Epigenetik mekanizmalar, erken embriyogenez ve gametogenez sırasında genomun yeniden programlanması, hücre farklılaşması ve kararlı bir soyun sürdürülmesi dahil olmak üzere, gebe kalmadan ölüme kadar tüm biyolojik süreçleri düzenlemektedir (Jamniczky vd., 2010). Bir bireyin sağlığı, genetiği ile birçok çevresel faktörün etkileşimine bağlıdır. Yaşam tarzı faktörlerinin epigenetik mekanizmalar yoluyla insan sağlığını ve yavrularını etkilemesi muhtemeldir. Gen ekspresyonundaki varyasyonlar, beslenme, davranış ve çevresel toksin maruziyeti dahil olmak üzere yaşam deneyimlerimize ve alışkanlıklarımıza bağlı olan epigenetikten etkilenir.



Şekil 4.1. Epigenetik Süreç

Epigenetik, doğrudan DNA kodlama dizisiyle ilgili olmayan mekanizmalar yoluyla gen ekspresyonunun kontrolü anlamına gelir. Bir organizmadaki tüm hücreler, aynı genoma sahip olmalarına rağmen çok farklı fenotiplere sahiptir. Epigenetik, DNA veya histon proteinlerine eklenen kimyasal bileşiklere verilen ve spesifik işareti yerleştiren veya kaldıran enzimler tarafından tanınan çeşitli epigenomik “işaretler” aracılığıyla gen ifadesini modüle eder ve düzenler. Bu işaretler, kromatinin uzamsal yapısını değiştirir. Ya kromatini sıkıştırarak transkripsiyon faktörlerinin DNA’ya bağlanmasını önler ya da kromatini açarak, transkripsiyon faktörü bağlanmasına izin verir ve genellikle hücresel süreçleri düzenler (Struhl 1998). DNA ve histon modifikasyonlarını içeren epigenetik mekanizmalar, kodlama dizilerinde bir değişiklik olmaksızın genlerin kalıtsal susturulmasıyla sonuçlanır. İnsan hastalıklarının incelenmesi genetik mekanizmalara odaklanmıştır, ancak epigenetik ağların dengesinin bozulması, kanser, kromozomal dengesizlikleri içeren sendromlar ve zeka geriliği dahil olmak üzere birçok ana patolojiye neden olabilmektedir (Jamniczky vd., 2010).



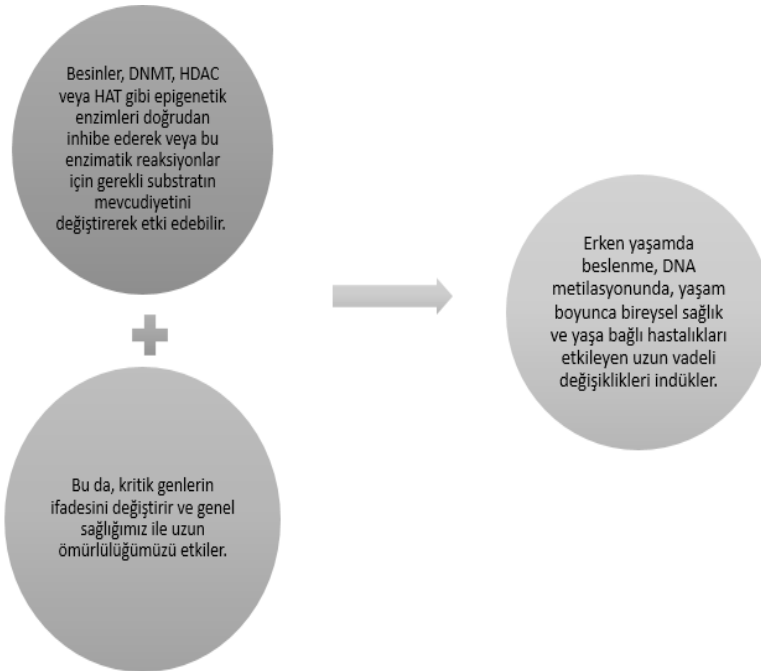
Şekil 4.2. Epigenetiğin alanı

Sitozin kalıntılarının C5 pozisyonunun metilasyonu DNA uzun zamandır epigenetik bir susturma olarak kabul edilmiştir. DNA metilasyonu 5-metilsitozin oluşturmak için CpG adalarındaki 5 karbonlu sitozin kalıntılarında metil gruplarının eklenmesi ile gen ekspresyonunu düzenlemek için histon modifikasyonları ile birlikte çalışır. DNA metilasyonu, gen susturulmasını indüklemek için promotörlerde hareket etme eğilimindeyken, histon asetilasyonu genellikle kromatini çözer. DNA metilasyonu, DNA metilasyon alanlarını içeren fonksiyonel kompleksleri toplayan, transkripsiyon inhibisyonuna yol açan veya baskıcı bir kromatin durumunu koruyan DNA metiltransferaz (DNMT) ailesindeki enzimler tarafından katalize edilir. DNMT enzimi ile insan genomu içindeki CpG bölgelerinin metilasyonu korunur (Kouzarides 1999).

Histon modifikasyonları epigenetik değiştiriciler olarak tanımlanmıştır. Histon asetilasyonu, transkripsiyonel aktivite ve açık bir kromatin durumu ile ilişkilidir. Histon kuyruklarının asetilasyonu iki enzim ailesi tarafından kontrol edilir: asetil grubunu transfer eden histon asetiltransferazlar (HAT'ler) ve asetil gruplarını kaldıran histon deasetilazlar (HDAC'ler). Histon kuyrukları üzerindeki bu işaretlerin modeline genellikle histon kodu adı verilir, bu da efektör proteinlerin bağlanmasını dikte eder ve bu da belirli hücresel süreçlerle sonuçlanır (Huang vd., 2014).

Bu aktif işaretler aynı zamanda yaşam tarzına ve çevresel faktörlere de bağlıdır. "Çevresel epigenetik", çevresel maruziyetlerin epigenetik değişiklikleri nasıl etkilediğini ifade eder. Yaşam deneyimleri, alışkanlıklar ve çev-

remiz, epigenomumuz ve sağlığımız üzerindeki etkileri sayesinde ne ve kim olduğumuzu şekillendirir; örneğin, tek yumurta ikizleri aynı genomu paylaşırlar ve yüzeysel olarak fenotipik olarak benzer olsalar da, tanımlanabilir farklılıkları olan benzersiz bireylerdir. Bu farklılıklar, epigenetik faktörlerden etkilenen farklı gen ifadesinden kaynaklanır. Davranış, beslenme ve toksinlere ve kirleticilere maruz kalma, epigenetik modifikasyonlarla ilişkili olduğu bilinen yaşam tarzı faktörleri arasındadır. Örneğin, beslenme, epigenetik olayları etkileyerek sağlığımızı etkileyen gebelikten ölüme kadar önemli bir çevresel maruziyettir. Son epidemiyolojik veriler, gelişmiş dünyada 1960'lardan beri gözlemlenen artan kanser insidansının kısmen, insanların ve vahşi yaşamın birçok kaynaktan günlük olarak maruz kaldığı endokrin bozucu kimyasallara (EDC'ler) maruz kalmasından kaynaklanabileceğini göstermektedir (Reamon-Buettner vd., 2008). Hücre döngüsü ile farklılaşma süreçleri arasındaki ara yüzde hücredeki bazı kontrol noktaları veya anahtar moleküller, kanser gelişimini destekleyen kimyasalların hedefi olabilir. EDC'lerin epigenetik etkilerinin anlaşılması, eylemlerinin değerlendirilmesine yardımcı olacaktır ve bu tür işaretlerin haritalanması, yol tabanlı toksisite testine dayalı risk yönetimi için kullanılabilir.



Şekil 4.3. Epigenetiğin mekanizması

5. EPİGENETİK VE BESLENME

Beslenme, en çok çalışılan etkileri kanıtlanan çevresel epigenetik faktörlerden biridir. Farklı epigenetik mekanizmaların (DNA metilasyonu, histon modifikasyonları, ncRNA'lar) birbirine bağlı olduğuna ve bir “epigenetik ağ” oluşturduğuna dair artan kanıtlar vardır. Gözlenen fenotip - genel sağlık ve yaşla ilgili süreçler dahil - bir dizi entegre sinyalin nihai sonucudur. Yaşam tarzı faktörleri ve çevresel riskler, DNA'mızda gen ifadesini etkileyen epigenetik izler bırakır; bazıları koruyucu etkiye sahipken bazıları zararlıdır. Meyve ve sebze açısından zengin diyetler, DNA üzerinde epigenetik ilaçlara benzer etkilere sahip olabilir. Biyoaktif gıda bileşenleri tarafından aktive edilen epigenetik etkilerin ve sinyal yollarının daha derin bir şekilde anlaşılması, besinlerin sağlığımız üzerindeki rolünü ve potansiyel faydasını değerlendirmeye ve kanser duyarlılığını azaltmaya yardımcı olacaktır. Beslenme epigenetiği, tedavi veya profilaksi için sinerjistik etkiler için ilaçlarla birleştirilebilir veya “epigenetik olarak sağlıklı” bir gebelik diyeti yoluyla yavrulardaki kronik hastalık yükünü azaltmak için hamile kadına uyarlanabilir. Hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde, anne diyetinin optimize edilmesi zorlu bir halk sağlığı sorunudur. Beslenme ve epigenetik alanında gelecekteki çalışmalar, halk sağlığına önemli faydalar sağlama potansiyeline sahiptir ve kişiselleştirilmiş beslenme, bir hastanın tıbbi programının bir parçası haline gelebilir. Olumsuz beslenme koşulları doğum öncesi, doğum sonrası sağlık ve artan hastalık riski arasında ilişkiler gözlemlenmiştir. Hollanda'da yapılan kohort sonuçlarına göre diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalık, metabolik bozukluklar ve ilerleyen yaşta azalmış bilişsel işlev ile ilişkili görülmüştür (Knopik vd., 2012). Gebeliğin ilk aylarının hastalık riski üzerinde en büyük etkiye sahip olduğu görülmektedir; Hollanda Kıtılığı sırasında gebe kalan annelerin normalden daha küçük bebekleri olma eğiliminde olmuş bu da genetik etkilerin devam edebileceğini ve nesilleri etkileyebileceğini düşündürmüştür. Fetüsün, sınırlı bir besin kaynağına yanıt olarak epigenetik olarak uyum sağlaması muhtemel görünmektedir. İnsanlarda, doğum öncesi kıtlığa maruz kalmayla ilişkili kalıcı epigenetik farklılıklar, maruz kalmayan kardeşlerine göre insülin metabolizmasında yer alan bir genin daha düşük derecede metilasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Heijmans vd., 2008).

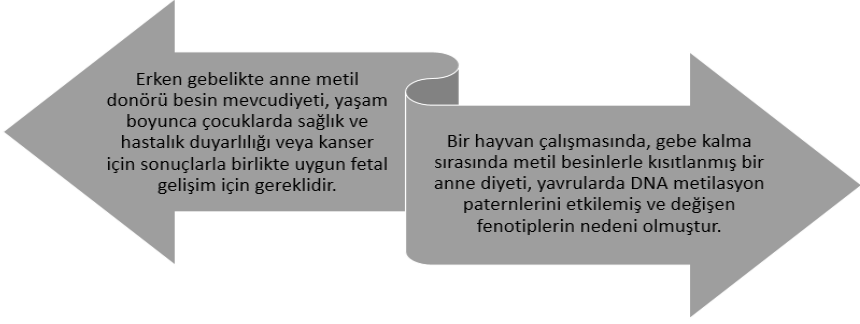
Erken yaşamda beslenme, DNA metilasyonunda, yaşam boyunca bireysel sağlık ve yaşa bağlı hastalıkları etkileyen uzun vadeli değişiklikleri indükler. Besinler, DNMT, HDAC veya HAT gibi epigenetik enzimleri doğrudan inhibe ederek veya bu enzimatik reaksiyonlar için gerekli substratın mevcudiyetini değiştirerek etki edebilir. Bu da, kritik genlerin ifadesini değiştirir ve genel sağlığımız ile uzun ömürlülüğümüzü etkiler (Kim vd., 2009). Bir dizi çalışma, diyetin fenotip ve yaşam boyunca hastalıklara duyarlılık üzerindeki epigenetik etkilerini bildirmiştir. Folat metabolizması, DNA metilasyonu yoluyla fenotipik değişikliklerle bağlantılıdır. Bunun nedeni suda çözünen bir B vitamini olan folat, DNA metilasyonu için gerekli olan AdoMet'in sentezi için bir tek karbon kaynağıdır. Kolin gibi diğer metil verici besinler de DNA metilasyon durumunu değiştirebilir ve ardından gen ekspresyonunu etkileyebilir. Erken gebelikte anne metil donörü besin mevcudiyeti, yaşam boyunca çocuklarda sağlık ve hastalık duyarlılığı veya kanser için sonuçlarla birlikte uygun fetal gelişim için gereklidir. Bir hayvan çalışmasında, gebe kalma sırasında metil besinlerle kısıtlanmış bir anne diyeti, yavrularda DNA metilasyon paternlerini etkilemiş ve değişen fenotiplerin nedeni olmuştur (Choi ve Friso 2010).

Tersine, ciddi beslenme yoksunluğu olmaksızın diyet kısıtlamasının, birkaç modelde yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir. Kalori kısıtlamasının, NF-κB ile sınırlı olmayan kritik genlerin inhibe edici etkileri yoluyla anti-inflamatuar etkisi görülmüştür. Epigenetik bakış açısından, DNA metilasyonu ile histon modifikasyonları arasında açık bir çapraz etkileşim vardır, bu da kromatin yapısının DNA metilasyonunu da belirleyebileceğini düşündürür (Lillycrop vd., 2014). Bu epigenetik etkileşimler bağlamında, sirtuin 1, NAD+Substrat özgüllüğü histon proteinlerini içeren bağımlı HDAC'nin bazı diyet bileşenleri (örneğin resveratrol, üzüm kabuklarında bulunan bir tür doğal fenol) tarafından aktive edildiği öne sürülmüştür. Sirtuin 1, DNA metilasyonu üzerindeki etkileri yoluyla yaşlanma ile ilişkili bazı fizyolojik değişiklikleri geciktiren veya tersine çeviren diyet kısıtlamasının bazı etkilerine aracılık etmektedir (Ford vd., 2011).

Bu metil donörü besin maddelerinden yüksek diyetler, özellikle epigenomun ilk kurulduğu erken gelişim sırasında gen ekspresyonunu hızla etkileyebilir ve yetişkin yaşamında uzun süreli etkilere sahip olabilir. Hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalar, doğumdan hemen önce veya hemen sonra metil veren folat veya kolin kaynaklı diyetlerin genomun bazı kısımlarında kalıcı

hipometilasyona neden olduğunu bildirmiştir. Yetişkinlerde, metil eksikliği olan bir diyet, DNA metilasyonunu azaltır, ancak diyete geri metil eklendiğinde değişiklikler tersine çevrilebilir. Ayrıca, hamile bir fare tarafından alınan diyet takviyelerine bağlı olarak, yavruları, diferansiyel gen metilasyonu nedeniyle farklı bir fenotipe sahip olabilir. Epigenom değiştirici kimyasallarla yapılan bir çalışmada, bisfenol A (BPA), kaplar da dahil olmak üzere çok sayıda plastik ürünün imalatında yaygın olarak kullanılan BPA ile beslenen yetişkin farelerin yavrularının, folik asit ve B12 vitamini gibi metil açısından zengin besinlerle beslenen annelerden doğanlara kıyasla sağlıklı bir fenotipe (obez, kanser ve diyabete eğilimli) sahip olma olasılığı daha yüksek görülmüştür. Bu durumda, annenin besin takviyesi, kimyasal maruziyetin olumsuz etkilerini ortadan kaldırarak, meyve ve sebzelerden ve diğer yüksek kaliteli yiyeceklerden zengin iyi bir diyetin önemini vurgulamıştır. Metil veren besinler, metil grubu transferleri için ortak substrat görevi görür. Mevcut metil donör havuzu, hem DNA hem de histon metilasyon kapasitesinin önemli bir düzenleyicisidir ve bunların üretimi de BPA'nın epigenetik etkilerine bağlıdır. Bu fare modelinde, değiştirilmiş DNA hipometilasyonu, bir diyet metil donörü olarak folik asit tarafından hafifletilebilir. Bu durumda, annenin besin takviyesi, kimyasal maruziyetin olumsuz etkilerini ortadan kaldırarak, meyve ve sebzelerden ve diğer yüksek kaliteli yiyeceklerden zengin iyi bir diyetin önemini vurgulamıştır. Metil veren besinler, metil grubu transferleri için ortak substrat görevi görmektedir (Alavian-Ghavanini ve Rüegg 2018).

Erken dönem diyetlerinin fenotip üzerindeki sonuçlarıyla epigenetik üzerindeki etkilerinin bir başka çarpıcı örneği bal arılarında bulunabilir. Kısır işçi arı, DNA metilasyon modellerindeki epigenetik değişiklikler yoluyla larva diyetine bağlı olarak verimli kraliçe arıdan farklılaşır. Kraliçe olmak üzere belirlenen larvalar, yalnızca kendisi bir kraliçe genleri grubunu susturan anahtar bir geni susturan epigenetik olarak aktif bileşenler içeren arı sütü ile beslenir. Ayrıca, yaşlanma sırasında DNA metilasyon değişiklikleri meydana gelir ve erken yaşam beslenmesinin DNA metilasyonunu modüle edebildiği ve özellikle DNA metilasyonunda ve yaşlanmayla ilişkili bir dizi hastalığa duyarlılığı etkileyen diğer işaretlerde uzun vadeli değişiklikleri indükleyerek uzun ömürlülüğü etkileyebildiği ortaya çıkmıştır (Choi ve Friso 2010).



Şekil 5.1. Fetal dönemde metilasyon

6. BESLENME EPIGENETİĞİ VE KANSER

Genlerdeki mutasyonlar küresel epigenetik profilleri etkileyen insan hastalıklarına neden olabilmektedir. Kalıtsal veya somatik olarak edinilebilen bu epigenetik anormalliklerin çoğu kromozomal değişikliklere ve bununla ilişkili hastalıklara neden olmaktadır. Bozulmuş epigenetik sistemlerle ortaya çıkan hastalıklar arasında kanser, diyabet, lupus, astım ve nörolojik hastalıklar yer almaktadır. Kanserde, diğer bölgelerde hipermetilasyona eşlik eden DNA'da hipometilasyon görülebilmektedir. Anormal hipometilasyon, onkogenler gibi belirli genlerin ekspresyonuna neden olurken, hipermetilasyon, tümör baskılayıcı genlerin inhibisyonuna neden olmaktadır. Son araştırmalar, epigenetik mekanizmaların kanserlerin başlamasında ve gelişmesinde geniş rol oynadığını, bunların DNA metilasyonu, histon modifikasyonları, nükleozom değişiklikleri, kodlayıcı olmayan RNA'ları içerdiğini göstermektedir. Kronik çevresel maruziyetin, yalnızca doğrudan maruz kalanlar için değil, aynı zamanda fetus için de tüm kanser oranlarındaki artıştan kısmen sorumlu olduğu düşünülmektedir. Bazı gelişim dönemleri, bu toksinlerin zararlı etkilerine karşı özellikle hassastır. Ek olarak, toksin, doz ve kritik maruz kalma penceresinin kombinasyonu da dikkate alınmalıdır, ancak tahmin edilmesi zor olabilir. Toksin maruziyetini takiben, yavrudaki epigenomik değişiklikler birkaç organı etkileyebilir ve bireyi çocukluk veya yetişkinlik döneminde karsinogenlere

karşı daha duyarlı hale getirebilir ve yaşamın ilerleyen dönemlerinde kanser, diyabet ve otizm dahil olmak üzere hastalıklara duyarlılığı artırabilir. Folik asit ve B12 vitamini, DNA metabolizmasında ve bir metil ürününün kimyasal reaksiyonu yoluyla DNA metilasyon modellerinin korunmasında önemli roller oynayan epigenetik olarak aktif bileşenlerin iki örneğidir. Bir *in vivo* çalışmada, diyetle folat alımı, promotörünün DNA metilasyonunu sık sık susturan, kanserle ilişkili kritik bir gen olan p16 tümör baskılayıcı gen ekspresyonu ile pozitif korelasyon göstermiştir. Yaşlanan fare kolonlarında, yaşlanmayla birlikte DNMT ifadesindeki bilinen azalmayla tutarlı olarak değiştirilmiş p16 gen ifadesi gözlenmiştir (Choi ve Friso 2010). Son birkaç yılda yapılan araştırmalar, epigenetik fenomene aracılık eden iki moleküler mekanizmaya odaklanmıştır: DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları. Biyolojik süreçlerde DNA metilasyonunun mekanizması ve rolünün anlaşılmasındaki ilerlemeleri gözden geçirildiğinde DNA metilasyonu yoluyla epigenetik etkiler, hastalıkların gelişiminde önemli bir role sahiptir. Bir çalışmada düşük H3K4me2 seviyeleri, prostat, akciğer ve böbrek kanserlerinde kötü prognoz ile ilişkili olmuş, düşük H3K18ac ve H3K9me seviyeleri, böbrek ve akciğer kanserinde daha kötü bir prognoz öngörmüştür. Akciğer kanserli hastalarda daha yüksek H3K9ac düzeylerinin ifadesi, daha düşük sağkalım ile ilişkilendirilmiştir (Ellinger vd., 2010). H3 asetilasyon ve H3K9 demetilasyonu, prostat kanseri ile tanımlanmıştır. Ayrıca, H3K4 trimetilasyonu, prostat kanseri nüksünün önemli bir öngörücüsü olarak değerlendirilmiştir (Bachmann vd., 2006).

Düşük folat alımı, hipometilasyon ve kolorektal ve pankreatik kanser riskinde artış ile ilişkilendirilmiştir. Folat eksikliği DNA metilasyonu potansiyelini azalttığından ve anormal DNA metilasyonu birçok kanser türüyle ilişkili olduğundan, folatın epigenetik değişiklikler yoluyla antikanserojenik özellikleri modüle ettiğine dair artan sayıda epidemiyolojik kanıt vardır. Doğal antioksidanlar içeren meyve ve sebzeler açısından zengin diyetler kansere karşı koruma sağlayabilir. Çoğunlukla sebzelerden elde edilen folatın yanı sıra çeşitli besin bileşenlerinin potansiyel epigenetik etkileri, kritik genlerin DNA hipermetilasyonunda tümör baskılanmasıyla sonuçlanan azalmalar gösteren bir dizi çalışmada incelenmiştir. Örneğin, yeşil çay, bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunan ve DNA metilasyonunun inhibisyonu dahil birçok biyolojik aktiviteye sahip doğal bileşikler olan polifenoller içermektedir (Bishop ve Ferguson 2015).

Çeşitli diyet faktörleri, potansiyel HDAC ve HAT modülatörleridir. Brokoli filizlerinde bulunan bir izotiyosiyanat olan sülforafan veya sarımsakta bulunan bir organosülfür bileşiği olan dialil disülfid gibi bileşenlerin bir epigenetik terapötik sınıfı olan HDAC inhibitörleri olarak işlev gördüğü gösterilmiştir. Bu tür epigenetik ilaçlar, kanser hücresi farklılaşmasını eski haline getirme ve tümörleri geleneksel terapilere karşı daha duyarlı hale getirmedeki etki tarzları nedeniyle, klinik deneylerde kanserleri tedavi etmek için kullanılmıştır. Bu bileşiklerin kullanıldığı birkaç in vitro çalışma, HDAC inhibisyonu ve histon asetilasyonu ile ilişkili anti-karsinogenik etkiler göstermiştir (Tiffon 2018).

Batı diyetleri doymuş yağlar, kırmızı etler ve boş karbonhidratlar açısından yüksek, taze meyve ve sebzeler, kepekli tahıllar, deniz ürünleri ve kümes hayvanları açısından düşük olma eğilimindedir. Bu diyet, hipertansiyon, kalp hastalığı, diyabet ve obezite gibi birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir ve genellikle artan kanser riski ile ilişkilendirilmiştir. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD), batı toplumlarında önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bir NAFLD formu olan alkolsüz steatohepatit (NASH), hepatositlerde lipid birikimi, inflamatuvar hücre infiltratları, oksidatif stres ve fibroz ile karakterizedir ve siroza veya hepatoselüler karsinomaya yol açabilir. Bir Batı diyetinin veya yüksek yağlı bir diyetin NAFLD gelişimi üzerindeki etkileri kemirgenlerde araştırılmıştır. NAYKH riski, Batı diyetindeki yağ asitlerindeki (FA'lar) dengesizlik nedeniyle artabilir. Örneğin, linoleik asidin α -linolenik asit veya uzun zincirli n-3 çoklu doymamış yağ asitleri ile ikame edilmesi ve yüksek yağlı, yüksek fruktozlu (HFHF) diyete bağlı NASH'de n-6:n-3 FA oranını azaltmıştır. Sağlıklı yağların eklenmesiyle n-6:n-3 oranının düşürülmesinin, oksidatif stresi ve iltihabı hafifleterek ve antioksidan durumu eski haline getirerek HFHF'nin neden olduğu NASH'ı önlediğini gösterilmiştir. DNA metilasyonu gibi epigenetikler, batı diyetinin insan vücudu üzerindeki etkisine dahil olabilir. Maternal Western diyetinin yavruların fiziksel aktivitesi, gen ekspresyonu ve fenotipi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. İlginç bir şekilde, F1 dişi yavrularında farklılıklar gözlemlenirken F2 erkek ve dişi yavrularda gözlemlenmemiş bu da F1 neslindeki değişikliklerin rahim içi somatik yeniden programlama ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür (Rueggsegger vd., 2017). Spesifik yağ asitlerinin (FA) epigenetik etkileri bir dizi çalışmada araştırılmıştır. Eikosapentaenoik asit (EPA) ve araşidonik asit (AA), temel FA metabolizmasının ürünleridir; her iki FA da inflamasyon çözümünde yer almaktadır. EPA,

özellikle balık yağının olumlu kardiyometabolik etkileri ışığında, uzun süredir koruyucu bir FA olarak kabul edilmektedir. Farklı yaş ve gelişim aşamalarındaki iki farklı insan kohortunda (emziren bebekler ve yetişkin erkekler) tam periferik kan DNA metilasyonu ile EPA ve AA arasında güçlü bir ilişki olduğu gösterilmiş ve böylece EPA ve AA DNA hipermetilasyonuna bağlanmıştır. Başka bir çalışma, maternal dislipideminin plasentalarda ve fetal karaciğerlerde önemli epigenetik değişikliklere neden olduğunu ve ayrıca fetal karaciğer triaçilgliserol birikimini artırdığını bildirmiştir. Özellikle erkeklerde kardiyovasküler ve metabolik hastalıkların DNA metilasyonundaki değişikliklerden gelişebileceği hayvan deneylerinden gösterilmiştir. Son zamanlarda yapılan bir çalışma, ebeveyn diyetinin yavrularının epigenetik modifikasyonlarını nasıl etkileyebileceğini ve kardiyovasküler ve metabolik hastalıkların gelişmesine yol açabileceğini ve merkezi sinir sistemi plastisitesini nasıl etkileyebileceğini göstermiştir (de La Rocha vd., 2016). Bu çalışma, hamilelik öncesinde ve sırasında yüksek yağlı, yüksek şekerli bir diyetle (HFHSD) maruz bırakılan farelerin, yavrularının kan basıncını, sıvı tutulmasını düzenleyen bir hormon sistemi olan telafi edici renin-anjiyotensin sisteminde (RAS) DNA modifikasyonlarına yol açtığını göstermiştir. Yetişkinlikte, HFHSD'ye maruz kalan hayvanların yavruları, beyin sapı, böbrek ve çekumda daha düşük bir anjiyotensin dönüştürücü enzim-2 (ACE2) gen ekspresyonu ve daha yüksek ACE2 gen aktivitesi dahil ancak bunlarla sınırlı olmamak üzere, kontrole kıyasla çeşitli farklılıklar sergilemiştir. Bu veriler, HFHSD'ye perinatal maruz kalmanın, beyin RAS'ında epigenetik değişikliklerle sonuçlandığını ve potansiyel olarak erkek yavruda otonomik işlev bozukluğuna yol açan nöronal ağların plastisitesini etkilediğini göstermektedir. Sonuç olarak, daha çocuk doğmadan batılı bir diyet uygulamak epigenetik değişiklikler yoluyla fizyolojik işlev bozukluğuna yol açabilir. F1 erkeklerini HFHSD'ye maruz kalan barajlardan yavrular) düzenli diyetle beslenen dişilerle çaprazlayarak F2 erkek ve dişi farelerde potansiyel nesiller arası bulaşmaya bakmak gibi daha ileri araştırmalar devam etmektedir (Mukerjee vd., 2018).

Batı diyetinin aksine, bir dizi çalışma, kalp hastalığı ve kardiyovasküler ölüm riskinin yanı sıra genel ölüm riskinin azalmasıyla ilişkili olan Akdeniz diyetini takip etmenin sağlık yararlarını tanımlamıştır. Akdeniz diyeti geleneksel olarak meyveler, sebzeler, makarna ve pirinç, balık ve kümes hayvanları, tam tahıllar ve sağlıklı yağları (tekli doymamış yağlar ve faydalı linolenik

asit gibi çoklu doymamış yağlar) içerir ve kırmızı et ve doymuş yağlardan fakirdir. Akdeniz diyetinin kardiyovasküler hastalığın birincil önlenmesi olarak olumlu etkileri, yüksek kardiyovasküler risk altındaki kişiler arasında değerlendirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler, ana kardiyovasküler olayların insidansının, sızma zeytinyağı veya fındıkla desteklenmiş bir Akdeniz diyeti uygulananlarda, yağı azaltılmış bir diyetle atananlara göre daha düşük olduğunu ortaya koymuştur (Estruch vd., 2018). Akdeniz diyeti ayrıca kanser insidansında azalma ile ilişkilidir ve sızma yağ ve karışık kuruyemişlerle desteklenmiş bir Akdeniz diyeti yiyen kadınlarda meme kanseri riskinin azaldığı bildirilmiştir. Meme kanseri ile ilgili olarak, bir çalışma, diyet kalıplarının meme bezi mikrobiyomunu etkileyerek meme kanserini önleme için alternatif bir mekanik yol oluşturduğunu göstermiştir. Hamilelik sırasında annenin Akdeniz diyetine bağlılığının yavru davranışları üzerindeki etkisi de araştırılmıştır ve hamileliğin erken döneminde annenin Akdeniz diyetine bağlılığı, erken çocukluk döneminde pozitif nörodavranışsal sonuçlarla ve damgalanmış genlerin kontrol bölgelerindeki cinsiyete bağlı metilasyon farklılıklarıyla ilişkilendirilmiştir (Shively vd., 2018).

Endokrin bozucu kimyasallar (EDC'ler), hormon sinyal yollarına müdahale eden bir grup çevresel kimyasal temsil eder. Epigenom üzerindeki eylemleri bir örnek olarak tanımlanmaktadır. İnsanlar ve hayvanlar düzenli olarak çok çeşitli EDC'ye maruz kalmaktadır. Erken yaşam sırasında, özellikle cenin gelişimi sırasında EDC'ye maruz kalmanın, daha sonraki yaşamda ve hatta sonraki nesilde ortaya çıkan kanserler de dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara katkıda bulunduğunu gösteren artan kanıtlar vardır. Bu, EDC ile ilgili olayların epigenetik kalıtımını önerir. Aslında, EDC'lerin bu uzun süreli etkilerinde epigenetik mekanizmaların merkezi bir rol oynadığı iyi bilinmektedir. Ayrıca, çok sayıda çalışma, EDC'lerin epigenetik değişikliklere neden olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, altta yatan etki mekanizmaları daha az anlaşılmıştır. EDC'lerin epigenetik üzerindeki etkileri yakın zamanda epigenetik enzim ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir. Yani DNMT(dna metiltransferaz)'ler, HAT (histonasiltransferaz)'ler ve HDAC(histondeasetilaz)'ler üzerinde olabilir. Bu durumda EDC'ler, östrojen ve androjen reseptörleri gibi nükleer hormon reseptörleri veya miRNA ekspresyonu yoluyla DNMT'yi etkiler. EDC'lerin ikinci etki modu gene özgüdür, lokusa özgü epigenetik kalıpları düzenler. Örneğin, EDC'ler, histon değiştiricileri kullanarak DNMT'lerle etkileşime

girerek bunları belirli genomik bölgelere alarak DNA metilasyon modellerini değiştirerek lokusa özgü kromatin durumlarını düzenlediği bildirilen nükleer reseptörler aracılığıyla bir geni spesifik olarak etkileyebilir. Ek olarak, EDC'lerin nükleer reseptörlerle girişim yoluyla diğer ncRNA ekspresyonunu düzenlemesi muhtemeldir. EDC'ler nesiller arası etkilerle erkek meme bezi gelişimini etkiler. BPA'ya maruz kaldıktan sonra erkek ve dişi meme bezi morfogenezinde meme kanseri riskine katkıda bulunabilecek değişiklikler tanımlanmıştır. Östrojen-mimetik BPA'ya fetal maruz kalmanın son zamanlarda doğum sonrası ve yetişkin sıçan meme bezlerinde yaşam boyunca epigenetik değişiklikleri tetiklediği ve gen ekspresyonunu değiştirdiği gösterilmiştir. Aslında, BPA'ya maruz kalan hayvanlarda DNA metilasyon durumundaki değişiklikler veya kromatin modifikasyonları, intraduktal hiperplaziler ve neoplastik lezyonlar gibi bazı pre-neoplastik lezyonların temelini oluşturabilir. Anne karnında BPA'ya maruz kalan hayvanlarda meme karsinogenezi riski artar ve bu risk, hayvanlar ikinci bir kanserojen uyarana maruz kaldığında daha da artar. Utero BPA maruziyetinin hem DNA metilasyon profilini hem de kromatin yeniden modellemesini değiştirdiği görülmüştür. Özellikle, BPA'ya maruz kalan hayvanlarda alfa-laktalbümin promotöründe, aktif olarak kopyalanan genlerin yerleşik bir epigenetik belirteci olan histon H3 lizin 4 trimetilasyonunun (H3K4me3) artan seviyeleri gözlenmiştir. BPA'ya fetal maruziyeti takiben mRNA ekspresyon profillerinde genel değişiklikler cinsel olgunlukta intraduktal hiperplazi ve duktal karsinoma (DCIS) histolojik değişiklikleri ile birlikte gözlenmiştir (Vandenberg vd., 2013).

SONUÇ

Yapılan çalışmalarda başta diyabet, dislipidemi, obezite, kanser ve metabolik sendrom olmak üzere kronik hastalıklar çeşitli genlerin allellerindeki gen polimorfizmleri ile ilişkilendirilmiştir. Bu genetik geçişin önüne geçilmesi ve hastalıkların önlenmesi açısından beslenmenin bireye özgü planlanması nütrigenetiği oluşturmuştur. Aileden geçen bu gen polimorfizmlerini ön görüp flavonoid ve poifenolden zengin, doymuş yağdan uzak besin seçimleri yapmanın kronik hastalıklarla ilişkili gen varyantlarında polimorfizmlerin önüne geçtiği yapılan çalışmalarda bildirmiştir. Ebeveyn diyetinin yavrularının

epigenetik modifikasyonlarını nasıl etkileyebileceği ve nesiller boyu aktarımı ise epigenetiği oluşturmuştur. DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları epigenetik sürecin moleküler metabolizmasının temelidir. Pek çok diyet faktörü ve çevresel koşullar ile DNA metilasyonu genlerin susturulmasına neden olmaktadır. Hastalıklara özgü spesifik yeni fenotiplerin oluşması ve nesilden nesile aktarılmasının temeli hipometilasyon ile susturulmuş genlerdir. Sonuç olarak epigenetik, erken yaşamda beslenmenin DNA metilasyonunda, yaşam boyunca bireysel sağlık ve yaşa bağlı hastalıkları etkileyen uzun vadeli değişiklikleri indüklemesidir. Nütrigenetik ve epigenetik çalışmaları sayesinde kronik hastalıklarla ilişkili genler, bunların çeşitli varyantları ve allelleri belirlenmiş, hastalıkların önlenmesi aşamasında bu genleri hedef alan çeşitli diyet ve egzersiz stratejileri oluşmuştur.

KAYNAKÇA

- ALAVIAN-GHAVANINI A VE RÜEGG J (2018). Understanding epigenetic effects of endocrine disrupting chemicals: From mechanisms to novel test methods. *Basic & clinical pharmacology & toxicology* **122**(1): 38-45.
- ANDREASEN CH VE ANDERSEN G (2009). Gene–environment interactions and obesity—Further aspects of genomewide association studies. *Nutrition* **25**(10): 998-1003.
- ANDRULIONYTE L, ZACHAROVA J, CHIASSEON J-L VE LAAKSO M (2004). Common polymorphisms of the PPAR- γ 2 (Pro12Ala) and PGC-1 α (Gly482Ser) genes are associated with the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes in the STOP-NIDDM trial. *Diabetologia* **47**(12): 2176-2184.
- BACHMANN IM, HALVORSEN OJ, COLLETT K, STEFANSSON IM, STRAUME O, HAUKAAS SA, SALVESEN HB, OTTE AP VE AKSLEN LA (2006). EZH2 expression is associated with high proliferation rate and aggressive tumor subgroups in cutaneous melanoma and cancers of the endometrium, prostate, and breast. *J Clin Oncol* **24**(2): 268-273.
- BELLIA A, GIARDINA E, LAURO D, TESAURO M, DI FEDE G, CUSUMANO G, FEDERICI M, RINI G, NOVELLI G VE LAURO R (2009). “The Linosa Study”: epidemiological and heritability data of the metabolic syndrome in a Caucasian genetic isolate. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* **19**(7): 455-461.

- BISHOP KS ve FERGUSON LR (2015). The interaction between epigenetics, nutrition and the development of cancer. *Nutrients* **7**(2): 922-947.
- BRENNAN RO ve MULLIGAN WC (1975). Nutrigenetics: new concepts for relieving hypoglycemia, M Evans & Company.
- CARLSSON E, FREDRIKSSON J, GROOP L ve RIDDERSTRÅLE M (2004). Variation in the calpain-10 gene is associated with elevated triglyceride levels and reduced adipose tissue messenger ribonucleic acid expression in obese Swedish subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **89**(7): 3601-3605.
- CHOI S-W ve FRISO S (2010). Epigenetics: a new bridge between nutrition and health. *Advances in nutrition* **1**(1): 8-16.
- CORELLA D, ARNETT DK, TUCKER KL, KABAGAMBE EK, TSAI M, PARNELL LD, LAI C-Q, LEE Y-C, WARODOMWICHIT D ve HOPKINS PN (2011). A high intake of saturated fatty acids strengthens the association between the fat mass and obesity-associated gene and BMI. *The Journal of nutrition* **141**(12): 2219-2225.
- DE LA ROCHA C, PÉREZ-MOJICA JE, LEÓN SZ-D, CERVANTES-PAZ B, TRISTÁN-FLORES FE, RODRÍGUEZ-RÍOS D, MOLINA-TORRES J, RAMÍREZ-CHÁVEZ E, ALVARADO-CAUDILLO Y ve CARMONA FJ (2016). Associations between whole peripheral blood fatty acids and DNA methylation in humans. *Scientific reports* **6**(1): 1-11.
- DELGADO-LISTA J, PEREZ-MARTINEZ P, GARCIA-RIOS A, PHILLIPS C, WILLIAMS C, GULSETH H, HELAL O, BLAAK E, KIEC-WILK B ve BASU S (2011). Pleiotropic effects of TCF7L2 gene variants and its modulation in the metabolic syndrome: from the LIPGENE study. *Atherosclerosis* **214**(1): 110-116.
- EL-SOHEMY A (2007). Nutrigenetics. *Nutrigenomics-Opportunities in Asia* **60**: 25-30.
- ENGSTROM G, HEDBLAD B, ERIKSSON K-F, JANZON L ve LINDGÄRDE F (2005). Complement C 3 Is a Risk Factor for the Development of Diabetes: A Population-Based Cohort Study. *Diabetes* **54**(2): 570-575.
- ESTRUCH R, ROS E, SALAS-SALVADÓ J, COVAS M-I, CORELLA D, ARÓS F, GÓMEZ-GRACIA E, RUIZ-GUTIÉRREZ V, FIOL M ve LAPETRA J (2018). Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet supplemented with extra-virgin olive oil or nuts. *New England journal of medicine* **378**(25): e34.
- FENECH M (2008). Genome health nutrigenomics and nutrigenetics—diagnosis and nutritional treatment of genome damage on an individual basis. *Food and Chemical Toxicology* **46**(4): 1365-1370.
- FLOREZ JC, HIRSCHHORN J ve ALTSHULER D (2003). The inherited basis of

- diabetes mellitus: implications for the genetic analysis of complex traits. *Annual review of genomics and human genetics* **4**(1): 257-291.
- FLOREZ JC, JABLONSKI KA, BAYLEY N, POLLIN TI, DE BAKKER PI, SHULD-
INER AR, KNOWLER WC, NATHAN DM VE ALTSCHULER D (2006). TCF7L2
polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. *New England Journal of Medicine* **355**(3): 241-250.
- FORD D, IONS LJ, ALATAWI F VE WAKELING LA (2011). The potential role of
epigenetic responses to diet in ageing. *Proceedings of the Nutrition Society* **70**(3):
374-384.
- FRAYLING TM, TIMPSON NJ, WEEDON MN, ZEGGINI E, FREATHY RM,
LINDGREN CM, PERRY JR, ELLIOTT KS, LANGO H VE RAYNER NW
(2007). A common variant in the FTO gene is associated with body mass index
and predisposes to childhood and adult obesity. *Science* **316**(5826): 889-894.
- GHOUSSAINI M, MEYRE D, LOBBENS S, CHARPENTIER G, CLÉMENT K,
CHARLES M-A, TAUBER M, WEILL J VE FROGUEL P (2005). Implication of
the Pro12Ala polymorphism of the PPAR-gamma 2 gene in type 2 diabetes and
obesity in the French population. *BMC medical genetics* **6**(1): 1-8.
- GLOYN AL (2003). The search for type 2 diabetes genes. *Ageing research reviews*
2(2): 111-127.
- GRECO L, ROMINO R, COTO I, DI COSMO N, PERCOPO S, MAGLIO M, PAP-
ARO F, GASPERI V, LIMONGELLI M VE COTICHINI R (2002). The first large
population based twin study of coeliac disease. *Gut* **50**(5): 624-628.
- GRIFFITHS JF, GRIFFITHS AJ, WESSLER SR, LEWONTIN RC, GELBART WM,
SUZUKI DT VE MILLER JH (2005). An introduction to genetic analysis, Mac-
millan.
- GUO Y, ZHI F, CHEN P, ZHAO K, XIANG H, MAO Q, WANG X VE ZHANG X
(2017). Green tea and the risk of prostate cancer: A systematic review and me-
ta-analysis. *Medicine* **96**(13).
- HEIJMANS BT, TOBI EW, STEIN AD, PUTTER H, BLAUW GJ, SUSSER ES,
SLAGBOOM PE VE LUMEY L (2008). Persistent epigenetic differences asso-
ciated with prenatal exposure to famine in humans. *Proceedings of the National
Academy of Sciences* **105**(44): 17046-17049.
- HORIKAWA Y, ODA N, COX NJ, LI X, ORHO-MELANDER M, HARA M, HI-
NOKIO Y, LINDNER TH, MASHIMA H VE SCHWARZ PE (2000). Genetic vari-
ation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus.
Nature genetics **26**(2): 163-175.
- HUANG B, JIANG C VE ZHANG R (2014). Epigenetics: the language of the cell?
Epigenomics **6**(1): 73-88.

- JAMNICZKY HA, BOUGHNER JC, ROLIAN C, GONZALEZ PN, POWELL CD, SCHMIDT EJ, PARSONS TE, BOOKSTEIN FL VE HALLGRÍMSSON B (2010). Rediscovering Waddington in the post-genomic age: operationalising Waddington's epigenetics reveals new ways to investigate the generation and modulation of phenotypic variation. *Bioessays* **32**(7): 553-558.
- KHAN MI, RATH S, ADHAMI VM VE MUKHTAR H (2018). Targeting epigenome with dietary nutrients in cancer: Current advances and future challenges. *Pharmacological research* **129**: 375-387.
- KIM K-C, FRISO S VE CHOI S-W (2009). DNA methylation, an epigenetic mechanism connecting folate to healthy embryonic development and aging. *The Journal of nutritional biochemistry* **20**(12): 917-926.
- KNOPIK VS, MACCANI MA, FRANCAZIO S VE MCGEARY JE (2012). The epigenetics of maternal cigarette smoking during pregnancy and effects on child development. *Development and psychopathology* **24**(4): 1377-1390.
- KOUZARIDES T (1999). Histone acetylases and deacetylases in cell proliferation. *Current opinion in genetics & development* **9**(1): 40-48.
- LILLYCROP KA, HOILE SP, GRENFELL L VE BURDGE GC (2014). DNA methylation, ageing and the influence of early life nutrition. *Proceedings of the Nutrition Society* **73**(3): 413-421.
- LUAN JA, BROWNE PO, HARDING A-H, HALSALL DJ, O'RAHILLY S, CHATTERJEE VK VE WAREHAM NJ (2001). Evidence for gene-nutrient interaction at the PPAR γ locus. *Diabetes* **50**(3): 686-689.
- MCGARRY JD (2002). Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes* **51**(1): 7-18.
- MOLERES A, OCHOA MC, RENDO-URTEAGA T, MARTÍNEZ-GONZÁLEZ MA, SAN JULIÁN MCA, MARTÍNEZ JA VE MARTIA (2012). Dietary fatty acid distribution modifies obesity risk linked to the rs9939609 polymorphism of the fat mass and obesity-associated gene in a Spanish case-control study of children. *British journal of nutrition* **107**(4): 533-538.
- MUKERJEE S, ZHU Y, ZSOMBOK A, MAUVAIS-JARVIS F, ZHAO J VE LAZARTIGUES E (2018). Perinatal exposure to Western diet programs autonomic dysfunction in the male offspring. *Cellular and molecular neurobiology* **38**(1): 233-242.
- MUTCH DM, WAHLI W VE WILLIAMSON G (2005). Nutrigenomics and nutrigenetics: the emerging faces of nutrition. *The FASEB journal* **19**(12): 1602-1616.
- NASIR A, BULLO MMH, AHMED Z, IMTIAZ A, YAQOUB E, SAFDAR M, AHMED H, AFREEN A VE YAQOUB S (2022). Nutrigenomics: Epigenetics and cancer prevention: A comprehensive review. *Critical reviews in food science and*

nutrition **60**(8): 1375-1387.

- ORDOVAS JM VE MOOSER V (2004). Nutrigenomics and nutrigenetics. *Current opinion in lipidology* **15**(2): 101-108.
- PÉREZ-MARTÍNEZ P, LÓPEZ-MIRANDA J, CRUZ-TENO C, DELGADO-LISTA J, JIMÉNEZ-GÓMEZ Y, FERNÁNDEZ JM, GÓMEZ MJ, MARÍN C, PÉREZ-JIMÉNEZ F VE ORDOVÁS JM (2008). Adiponectin gene variants are associated with insulin sensitivity in response to dietary fat consumption in Caucasian men. *The Journal of nutrition* **138**(9): 1609-1614.
- PHILLIPS CM, TIERNEY AC VE ROCHE HM (2008). Gene–nutrient interactions in the metabolic syndrome. *Lifestyle Genomics* **1**(3): 136-151.
- PHILLIPS CM, GOUMIDI L, BERTRAIS S, FIELD MR, MCMANUS R, HERCBERG S, LAIRON D, PLANELLS R VE ROCHE HM (2011). Gene-nutrient interactions and gender may modulate the association between ApoA1 and ApoB gene polymorphisms and metabolic syndrome risk. *Atherosclerosis* **214**(2): 408-414.
- PHILLIPS CM, GOUMIDI L, BERTRAIS S, FIELD MR, PELOSO GM, SHEN J, MCMANUS R, HERCBERG S, LAIRON D VE PLANELLS R (2009). Dietary saturated fat modulates the association between STAT3 polymorphisms and abdominal obesity in adults. *The Journal of nutrition* **139**(11): 2011-2017.
- PHILLIPS CM, GOUMIDI L, BERTRAIS S, FERGUSON JF, FIELD MR, KELLY ED, MEHEGAN J, PELOSO GM, CUPPLES LA VE SHEN J (2010a). Additive effect of polymorphisms in the IL-6, LTA, and TNF- α genes and plasma fatty acid level modulate risk for the metabolic syndrome and its components. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **95**(3): 1386-1394.
- PHILLIPS CM, GOUMIDI L, BERTRAIS S, FIELD MR, ORDOVAS JM, CUPPLES LA, DEFOORT C, LOVEGROVE JA, DREVON CA VE BLAAK EE (2010b). Leptin receptor polymorphisms interact with polyunsaturated fatty acids to augment risk of insulin resistance and metabolic syndrome in adults. *The Journal of nutrition* **140**(2): 238-244.
- POVEL C, BOER J, REILING E VE FESKENS E (2011). Genetic variants and the metabolic syndrome: a systematic review. *Obesity Reviews* **12**(11): 952-967.
- RADY I, MOHAMED H, RADY M, SIDDIQUI IA VE MUKHTAR H (2018). Cancer preventive and therapeutic effects of EGCG, the major polyphenol in green tea. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences* **5**(1): 1-23.
- REAMON-BUETTNER SM, MUTSCHLER V VE BORLAK J (2008). The next innovation cycle in toxicogenomics: environmental epigenetics. *Mutation Research/ Reviews in Mutation Research* **659**(1-2): 158-165.
- RISCUTA G (2016). Nutrigenomics at the interface of aging, lifespan, and cancer

- prevention. *The Journal of nutrition* **146**(10): 1931-1939.
- RUEGSEGGER GN, GRIGSBY KB, KELTY TJ, ZIDON TM, CHILDS TE, VIEIRA-POTTER VJ, KLINKEBIEL DL, MATHENY M, SCARPACE PJ VE BOOTH FW (2017). Maternal Western diet age-specifically alters female offspring voluntary physical activity and dopamine-and leptin-related gene expression. *The FASEB Journal* **31**(12): 5371-5383.
- SÁEZ ME, GONZALEZ-SANCHEZ JL, RAMIREZ-LORCA R, MARTINEZ-LARRAD MT, ZABENA C, GONZALEZ A, MORON FJ, RUIZ A VE SERRANO-RIOS M (2008). The CAPN10 gene is associated with insulin resistance phenotypes in the Spanish population. *PLoS One* **3**(8): e2953.
- SCACCHI R, PINTO A, RICKARDS O, PACELLA A, DE STEFANO G, CANNELLA C VE CORBO R (2007). An analysis of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- γ 2) Pro12Ala polymorphism distribution and prevalence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) in world populations in relation to dietary habits. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* **17**(9): 632-641.
- SCRIVER CR (2007). The PAH gene, phenylketonuria, and a paradigm shift. *Human mutation* **28**(9): 831-845.
- SHANKAR E, KANWAL R, CANDAMO M VE GUPTA S (2016). Dietary phytochemicals as epigenetic modifiers in cancer: promise and challenges. *Seminars in cancer biology*, Elsevier.
- SHIVELY CA, REGISTER TC, APPT SE, CLARKSON TB, UBERSEDER B, CLEAR KY, WILSON AS, CHIBA A, TOOZE JA VE COOK KL (2018). Consumption of Mediterranean versus Western diet leads to distinct mammary gland microbiome populations. *Cell reports* **25**(1): 47-56. e43.
- SHUKLA S, SHANKAR E, FU P, MACLENNAN GT VE GUPTA S (2015). Suppression of NF- κ B and NF- κ B-regulated gene expression by apigenin through I κ B α and IKK pathway in TRAMP mice. *PLoS One* **10**(9): e0138710.
- SIMOPOULOS A VE ORDOVAS J (2004). *Nutrigenetics and Nutrigenomics*, vol. 93. *World Rev. Nutr. Diet.*
- STEFANSKA B, RUDNICKA K, BEDNAREK A VE FABIANOWSKA-MAJEWSKA K (2010). Hypomethylation and induction of retinoic acid receptor beta 2 by concurrent action of adenosine analogues and natural compounds in breast cancer cells. *European journal of pharmacology* **638**(1-3): 47-53.
- STIDLEY CA, PICCHI MA, LENG S, WILLINK R, CROWELL RE, FLORES KG, KANG H, BYERS T, GILLILAND FD VE BELINSKY SA (2010). Multivitamins, Folate, and Green Vegetables Protect against Gene Promoter Methylation in the Aerodigestive Tract of Smokers Dietary Factors Protect against Gene Methylation in Smokers. *Cancer research* **70**(2): 568-574.

- STRUHL K (1998). Histone acetylation and transcriptional regulatory mechanisms. *Genes & development* **12**(5): 599-606.
- TANOFSKY-KRAFF M, HAN JC, ANANDALINGAM K, SHOMAKER LB, COLUMBO KM, WOLKOFF LE, KOZLOSKY M, ELLIOTT C, RANZENHOFER LM VE ROZA CA (2009). The FTO gene rs9939609 obesity-risk allele and loss of control over eating. *The American journal of clinical nutrition* **90**(6): 1483-1488.
- TAPUERU-FRENCH C (2009). Can the use of genetics benefit weight loss in a New Zealand setting. *Unpubl MSc thesis, University of Auckland*.
- TIFFON C (2018). Histone deacetylase inhibition restores expression of hypoxia-inducible protein NDRG1 in pancreatic cancer. *Pancreas* **47**(2): 200.
- ULLAH N, AHMAD M, ASLAM H, TAHIR MA, AFTAB M, BIBI N VE AHMAD S (2016). Green tea phytochemicals as anticancer: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* **6**(4): 330-336.
- VANDENBERG LN, SCHAEBERLE CM, RUBIN BS, SONNENSCHNEIN C VE SOTO AM (2013). The male mammary gland: a target for the xenoestrogen bisphenol A. *Reproductive Toxicology* **37**: 15-23.
- VOHL M-C, ROBITAILLE J, GRAHAM JE VE GODARD B (2013). Risks of nutrigenomics and nutrigenetics? What the scientists say.
- WARODOMWICHIT D, ARNETT DK, KABAGAMBE EK, TSAI MY, HIXSON JE, STRAKA RJ, PROVINCE M, AN P, LAI C-Q VE BORECKI I (2009). Polyunsaturated fatty acids modulate the effect of TCF7L2 gene variants on postprandial lipemia. *The Journal of nutrition* **139**(3): 439-446.
- WEEDON MN, MCCARTHY MI, HITMAN G, WALKER M, GROVES CJ, ZEGGINI E, RAYNER NW, SHIELDS B, OWEN KR VE HATTERSLEY AT (2006). Combining information from common type 2 diabetes risk polymorphisms improves disease prediction. *PLoS medicine* **3**(10): e374.
- WILD S, ROGLIC G, GREEN A, SICREE R VE KING H (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes care* **27**(5): 1047-1053.
- ZEISEL SH (2008). RETRACTED: Genetic polymorphisms in methyl-group metabolism and epigenetics: Lessons from humans and mouse models. *Brain research* **1237**: 5-11.

5. BÖLÜM

TEMEL HÜCRE KÜLTÜRÜ, 3 BOYUTLU HÜCRE KÜLTÜRÜ VE METODOLOJİK GELİŞMELER

Dr. Öğr. Üyesi Seçil YILMAZ

Erciyes Üniversitesi, Genom ve Kök Hücre Merkezi(GENKÖK),

siyilmaz@erciyes.edu.tr

Orcid: 0000-0001-9381-828X

Medine DOĞAN SARIKAYA,

Erciyes Üniversitesi, Genom ve Kök Hücre Merkezi(GENKÖK),

Orcid: 0000-0003-0435-6066

Elif Afra BEŞPARMAK

Erciyes Üniversitesi, Genom ve Kök Hücre Merkezi(GENKÖK),

ORCID: 0000-0001-6200-876X

Zehra VAROL

Erciyes Üniversitesi, Genom ve Kök Hücre Merkezi(GENKÖK),

0000-0002-0733-6485

Muhammed Sabit KIYICI

Erciyes Üniversitesi, Genom ve Kök Hücre Merkezi(GENKÖK),

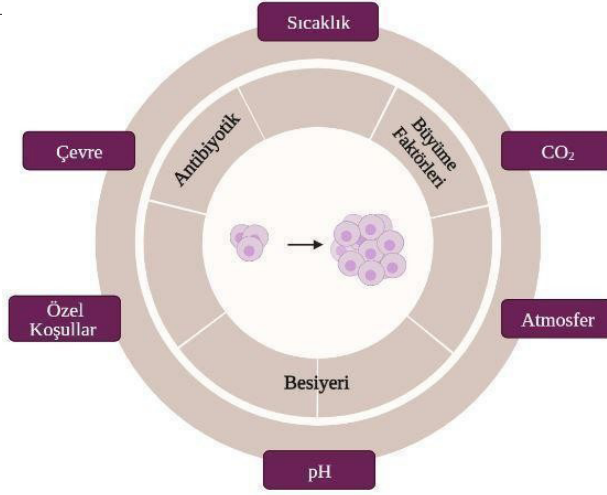
ORCID: 0000-0002-1895-1301

1. HÜCRE KÜLTÜRÜNE GENEL BİR BAKIŞ

Temel bilimsel araştırmalar için önemli bir araç olan hücre kültürü, fizyolojik koşullarda ökaryotik veya prokaryotik hücrelerin büyümesini sağlayan laboratuvar yöntemidir. Bir insandan, hayvandan veya bitkiden hücrelerin izole edilmelerini ve ardından uygun bir yapay ortamda büyümelerini ifade eder.

Kökeninin 20. yüzyılın başlarında olduğu bilinen bu yöntem, hayvan hücrelerinin, canlı vücudunun dışında incelenebilmesi amacıyla Harisson tarafından 1906 yılında keşfedildiği günden beri doku büyümesi ve olgunlaşması, virüs biyolojisi, aşı gelişimi, genlerin rolü, ilaç üretimi için hücre çalışmalarının temelini oluşturmaktadır (Richter ve ark., 2021; Harrison, 1906). Kültürde çoğaltılmış hücrelerin deneysel uygulamaları, *in vitro* büyütülebilen hücre türleri kadar çeşitlidir. Özellikle kanser çalışmalarında tümörün incelenmesi konusunda kritik rol oynamaktadırlar (Shoemaker, 2006). Bugüne kadar, yapılan çalışmalardan elde edilen bilgiler, “tümör gelişimi ve ilerlemesinin dinamiklerini incelemek ve klinik olarak geliştirmek için *in vivo* tümör mikroçevresini taklit eden karmaşık bir kültür modeli” gerekliliğini ortaya koymaktadır (Segeritz ve Vallier, 2017). Bu ihtiyaç ise *in vivo* fizyolojiyi en iyi şekilde mimik edilebilen hücre kültürü ile sağlanabilmektedir (Fang ve Eglen, 2017). Mimik edebilme yeteneği, hücre kültürü tekniğinin geniş bir kullanıma sahip olmasında etkilidir (Lv ve ark., 2017). Hücre kültür çalışmaları birçok besin ve büyüme faktörlerinin karışımını içeren kültür ortamında gerçekleşmektedir (Price, 2017). Bir büyüme ortamı veya kültür ortamı, mikroorganizmaların, hücrelerin veya küçük bitkilerin büyümesini desteklemek için tasarlanmış sıvı veya jelden oluşmaktadır. Hücre kültürü ortamı genellikle uygun bir enerji kaynağı ve hücre döngüsünü düzenleyen bileşikler içerir. Tipik bir büyüme ortamı, büyüme faktörleri, hormonlar, amino asitler, vitaminler, inorganik tuzlar ve serumdan oluşur.

Ayrıca besinlere ek olarak büyüme ortamı, pH ve ozmolaritenin korunmasına da yardımcı olur (Şekil 1) (Rothblat, 2012 ; Price, 2017).



Şekil 1: Hücre Büyüme Ortamının Şematik Gösterimi. Hücrenin bulunduğu ortama eklenen büyüme faktörleri besiyeri ve antibiyotik hücrenin güvenli büyümesini sağlamaktadır. Hücre için özel bir dünya gibi gösterilmekte olan çevre, özel koşullar, pH ve sıcaklık dengesini sağlamaktadır.

Kullanılan hücre çeşidine ve büyüme ortamlarına bağlı olarak değişiklik gösteren *in vitro* hücre kültürleri, hücre davranışlarının altında yatan mekanizmaların anlaşılmasını sağlamak ve ileri tedavi yöntemleri geliştirmek için sıklıkla kullanılmaktadır (Kapałczyńska ve ark., 2018). Bu davranışlar, biyokimyasal ve biyomekanik mikroçevresinden etkilenen hücre farklılaşmasını, göçünü, büyümesini ve mekaniğini içerir. Uygun hücre kültürü yöntemlerinin seçimi yeni tedavi stratejileri oluşturmada, mevcut radyoterapi ve kemoterapi yöntemlerinin optimize edilmesinde etkili olabilir (Kapałczyńska ve ark., 2018). Aynı zamanda *in vitro* hücre kültürü, doku ve organların oluşumu ve işlevleri ile ilgili süreçleri anlamak açısından kritik önem taşımaktadır (Duval ve ark., 2017).

İdeal olarak kabul edilmiş hücre kültürü tekniği bulunmamaktadır. Çalışmalarda primer hücre kültürü, hücre hatları ve hayvan modelleri gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır. Her yöntemin çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Hayvan modellerinin kullanılması, kanser dahil olmak üzere hastalıkların daha iyi anlaşılması için uzun zamandır bir araç olarak kabul edilmesine rağmen klinik deneylere başarıyla çevrilen çalışmaların oranı %8'den düşüktür (Mak, Evaniev & Ghert, 2014). Deneysel bir *in vitro* model-

de, çoğu çalışma insan kanser hücre hatlarına dayanmaktadır; bununla birlikte bu hücreler ile orijinal tümör hücreleri arasında bazı genetik veya fenotipik farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılıklara rağmen hücre hatları yaygın olarak kullanılmaktadır.

1.1. Hücre Hatları

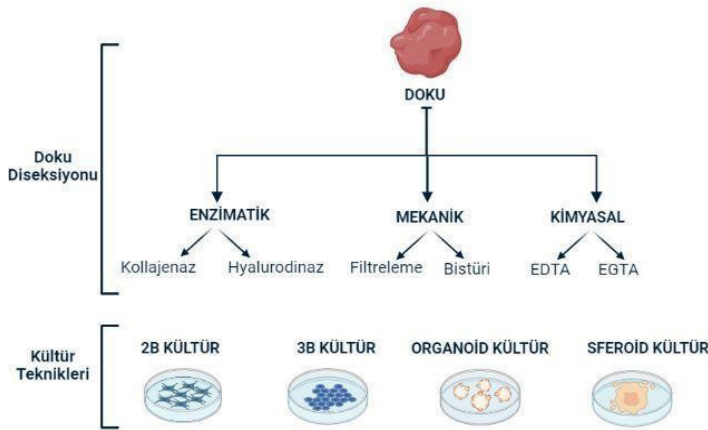
İnsan kanser hücrelerinden üretilen hücre hatları, kanserin biyolojisini incelemek ve antikanser ajanların terapötik etkinliğini test etmek için kullanılan temel modellerdendir. 1951’de Henrietta Lacks’in rahim ağzı kanserinden elde edilen HeLa, kültürlenmiş ilk hücre hattıdır (Sharma, Haber & Settleman., 2010; Scherer, Syverton & Gey, 1953). Ölümsüz hücre hatları, araştırmalarda genellikle primer hücrelerin yerine kullanılmaktadır. Uygun maliyetli olmaları, kullanımlarının kolay olması, hayvan ve insan dokularının kullanımıyla ilgili etik kaygıları ortadan kaldırmaları gibi çeşitli avantajlar sağlamaktadır. Hücre hatları ayrıca, tutarlı ve tekrarlanabilir sonuçlar sağladığı için değerli bir hücre popülasyonu oluşturmaktadır (MacDonald, 1990; Schurr ve ark., 2009). Araştırmalar için insanlardan ve hayvanlardan elde edilen hücre hatları American Type Culture Collection (ATCC) ‘den temin edilmektedir. Hücre biyolojisi kapsamında 4.000’den fazla hücre hattı vardır. Hücre hatları türe, dokuya, hastalık tipine ve sinyal yoluna göre çeşitlenmektedir (Erişim Tarihi: 14.12.2022). Hücre hatlarının çok fazla sayıda pasajlanması genotipik ve fenotipik varyasyona neden olabilir. Bu nedenle, hücre hatları primer hücreleri yeterince temsil etmeyebilir ve farklı sonuçlar verebilir. Sonuç olarak doğrudan dokudan izole edilen primer hücrelerin, insan ve hayvan biyolojisini incelemek için daha doğru araçlar olduğu kabul edilmektedir (Faridi ve ark., 2018).

1.2. Primer Hücre Kültürü

Primer hücre kültürleri, moleküler biyoloji ve onkoloji alanlarında yoğun olarak araştırılmaktadır (Richter ve ark., 2021). Primer hücre kültürü, kanser biyolojisini ve gen ekspresyonunu incelemek için güçlü bir araç olarak hizmet etmektedir. Hastadan elde edilen dokular, hormon tepkisini ve kemo-

terapinin tümör hücreleri üzerindeki etkisini incelemekte faydalı olmaktadır (Vázquez ve ark. 2004). Sahip olduğu bu özelliklerden dolayı primer hücre kültürü altın standart in vitro model olarak kabul edilmektedir ve araştırma alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Mitra, Mishra & Li, 2013). Bu avantajlara rağmen primer hücre izolasyonunun ve kültürünün maliyetleri genellikle yüksektir. Hücre kültüründe optimum koşulların sağlanmaması durumunda, primer kültür ile çoğaltılmış hücrelerin özellikleri sonraki pasajlarda değişebilmektedir. (Erişim Tarihi: 18.12.2022). Bu dezavantajların bir kısmının üstesinden gelmek için yeni yaklaşımlar geliştirilmektedir. 3 boyutlu (3B) kültürler ve biyoreaktörler, mikro çevre öğelerinin uygulanması için yenilikçi modelleri temsil etmektedir.

Temel doku diseksiyon yöntemleri ve farklı kültür teknikleri Şekil 2’de gösterilmektedir.



Şekil 2: Primer Hücre Kültüründe Hücre İzolasyonu ve Kültür Tekniklerinin Şematik Gösterimi. Hücre kültüründe elde edilen dokunun diseksiyonu enzimatik, mekanik ve kimyasal olarak 3 farklı yöntemle gerçekleştirilebilir. Elde edilen hücreler iki boyutlu (2B), üç boyutlu (3B), organoid ve sferoid olarak kültürlenmektedir.

2. İKİ BOYUTLU VE ÜÇ BOYUTLU HÜCRE KÜLTÜRÜ

Biyofiziksel ve biyokimyasal uyarılara verilen hücre tepkilerinin *in vitro* ortamda çalışılması 2B hücre kültürleri kullanılarak yıllardır yürütülmektedir. Bu yaklaşımların hücre davranışını anlamamızı önemli ölçüde geliştirdiği kabul edilmesine rağmen artan kanıtlar *in vitro* ortamda 2B sistemlerin hücre biyoaktivitelerinde sapmaya yol açabileceğini göstermektedir (Duval ve ark., 2017). 2B hücre kültürleri, temel hücresel süreçleri inceleyerek kök hücre ve kanser araştırmalarından rejeneratif tıbbı kadar birçok uygulamayı kapsamaktadır. 2B tek tabakalarda bulunan hücreler besin ve büyüme faktörlerine doğrudan erişim sonucunda homojen bir şekilde büyür ve çoğalır (Edmondson ve ark., 2014). Bu hücreler dokuya özgü mimariyi, hücreden hücreye ve hücreden matrise bağlantılarını, hücrelerin işlevlerini ve dış uyarılara tepkilerini etkileyebilecek *in vivo* fizyolojiyi istenilen düzeyde yansıtamazlar (Mazzoleni, Lorenzo, & Steinberg, 2009). 2B hücre kültürleri temel, düşük maliyetli ve çeşitli hücre tipleri ile çalışma imkânı sunduğu için araştırmacıların dikkatini çekiyor olsa da yeni ilaç keşiflerinde ve klinik deneylerdeki başarısızlıkları bu modellerin kullanımını sınırlamaktadır (Tablo 1) (Langhans, 2018). Bu sınırlamalardan dolayı 2B hücre kültürü teknikleri üç boyutlu (3B) kültürlere evrilmiştir.

Son zamanlarda 3B hücre kültürü sistemleri özellikle kanser ve kök hücre araştırmaları için büyük potansiyele sahip güçlü sistemler olarak ortaya çıkmaktadır. 3B hücre kültürü modelleri yalnızca *in vivo* morfolojiyi değil aynı zamanda hücre bağlantısını, gen ekspresyonunu ve doku mimarisini daha iyi özetleyebilmektedir bu da onları 2B modellere kıyasla fizyolojik olarak daha avantajlı hale getirmektedir (Baker ve Chen, 2012; Huang ve Gao, 2018). 3B hücre kültür teknolojisi özellikle son on yılda yönetsel olarak ilerleme göstermiştir ve bu sebeple araştırmacılar 3B hücre kültürü uygulamalarının potansiyelini keşfettikçe daha fazla gelişme ortaya çıkacaktır (Edmondson ve ark., 2014).

Tablo 1: 2 Boyutlu (2B) ve 3 Boyutlu (3B) Hücre Kültürünün Farklılıklarının Gösterimi. Kültürdeki hücrelerin özellikleri bakımından 2B ve 3B kültür yöntemleri için avantajlar ve dezavantajlar gösterilmiştir.

Özellikler	2BB HücreKültürü	3B HücreKültürü	Referans
Kültür Oluşturma Süresi	Hızlı oluşur	Uzun süreler alır	(Baker ve Chen, 2012)
<i>in vivo</i> Benzerlik	Canlıyımimik etmedüzeiy düşük	Canlıyımimik etmedüzeiy yüksek	(Griffith ve Swartz, 2006)
Hücre Etkileşimleri	Hücre-hücre ve hücre-hücre dışı ortam etkileşimlerini düşük oranda, yansıtma.	Hücre-hücre ve hücre-hücre dışı ortamın, etkileşimlerini yüksek oranda yansıtma	(Lee, Cuddihy & Kotov, 2008)
İmmün Sistemle Etkileşim	Düşük etkileşim düzeyi	Daha yüksek etkileşim potansiyeli	(Bédard ve ark., 2020)
Kültür Maliyeti	Daha düşük maliyet	Yüksek maliyet	(Weiswald, Bellet, & Dangles-Marie, 2015)
Tekrarlanabilirlik	Yüksek oranda	Düşük oranda	(Heydari, ve ark., 2021)
Tümör Modelleme	Tümör mikroçevresinin özelliklerini düşük düzeyde yansıtma	Tümör mikroçevresinin özelliklerini yüksek düzeyde yansıtma	(Bédard ve ark., 2020)

1.1. İskele Tabanlı Hücre Kültür Sistemleri

Yapı iskeleleri, bir doku oluşturmak için üzerine hücrelerin ekilebildiği, sentetik, doğal veya kompozit bileşenlerden oluşan 3B bir yapıyı ifade etmektedir. Hücreler yapı iskelelerinde yeterince çoğaldıkları zaman kendi ekstrasellüler matrikslerini (ECM)'lerini üretmeye başlarlar. Yapı iskelelerinin; geçirgenlik, gözeneklilik ve mekanik özellikleri gibi çeşitli faktörler hücrenin mikroçevresinin mimik edilebilmesinde katkı sağlamaktadır (Fang ve Eglen, 2017;Ovsianikov, Khademhosseini & Mironov, 2018).

3B hücre kültürü gerçekleştirmek için yaygın olarak kullanılan yapı iskeleleri, doğal olarak üretilmiş matrisleri ve sentetik malzemeleri içerir. Hücre migrasyonu, proliferasyonu ve agregasyonundan sorumlu özellikler arasında kimyasal bileşim, şekil, yapı ve gözeneklilik yer almaktadır (Nyga, Cheema & Loizidou, 2011). Doğal yapı iskeleleri temel olarak kollajen, elastin, laminin, fibrin, jelatin, matrigel gibi tipik ECM bileşenleri veya kitosan, ipek, aljinat, hyalüronik asit, heparin ve kondroitin sülfat gibi doğal kaynaklardan üretilen hidrojeller tarafından oluşmaktadır (Brigo ve ark., 2017). Doğal yapı iskeleleri, hücre etkileşimlerini, yapışmayı ve sinyalleşmeyi destekleyebilirler aynı zamanda biyolojik olarak da parçalanabilirler (Brigo ve ark., 2017).

1.2. İskelesiz Hücre Kültür Sistemleri

İskelesiz tekniklerin temeli asılı damla, düşük bağlantılı kültür kapları ve dönen kültürler gibi çeşitli sistemlere dayanmaktadır (Lin ve Chang, 2008). Rejeneratif tıp ve yara iyileştirme alanlarında dokunun oluşturulması için iskelesiz teknikler tercih edilmektedir (Alblawi ve ark., 2020). Hücreler kullanılarak canlı dokunun geliştirilmesi ve hücrelere bağlı olarak matris ve mimarinin oluşturulmasıyla *in vivo* ortam taklit edilmektedir (Alghuwainem, Alshareeda & Alsowayan,2019). İskelesiz kültür sistemlerinin oluşması hücrelere dışarıdan müdahale olmadan kendi kendine organizasyonuna ve hücrelerin sferoid oluşturması gibi doğal özelliklerine bağlıdır. Bu iki özelliği sayesinde hücreler klinik uygulamalar için yüksek potansiyelli biyomimetik dokular üretmektedir (Athanasίου ve ark., 2013). İskelesiz kültürler teknik olarak daha kolay ve nispeten daha düşük maliyetli sistemlerdir (Temple ve

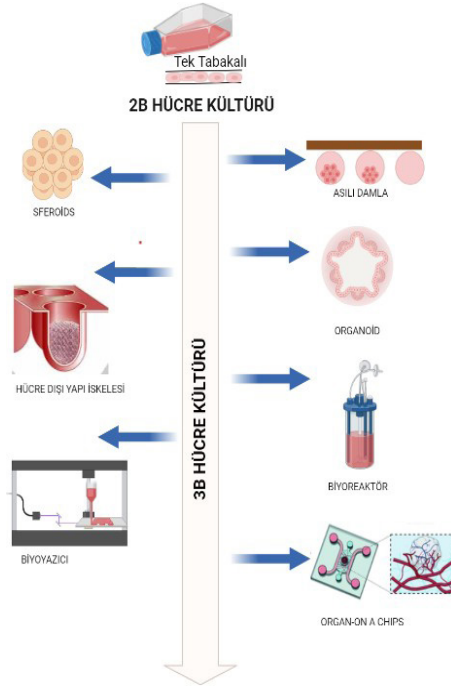
ark., 2022). İskelesiz yöntemlerin bir diğer avantajı ise birçok farklı hücre tipine uygulanabilir olmasıdır. Diğer tekniklerle karşılaştırıldığında, iskelesiz sistemlerin çok daha temel olduğu ve araştırmacılar tarafından mevcut hücre kültürü rutinine daha kolay uyarlanabilir olduğu kanıtlanmıştır (Mapanao ve Voliani, 2020).

3. HÜCRE KÜLTÜRÜNDE 3 BOYUTLU BİYOYAZICILAR VEGÜNCELİYAKLAŞIMLAR

2B hücre kültürleri kullanılarak *in vivo* ortamın mimik edilemediği araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (Edmondson ve ark., 2014). 2B kültürdeki anormal hücre morfolojisi; hücre proliferasyonu, farklılaşması, apoptoz ve protein ekspresyonu dahil olmak üzere birçok hücresel süreci etkiler (Tibbitt ve Anseth, 2009). 3B hücre kültürü modelleri gibi yeni tekniklerin geliştirilmesi hücre kültürleri mikro çevresinin iyileştirilmesine yardımcı olmuştur (Zhu ve ark., 2016). Son araştırmalar, 2B ve 3B kültür sistemleri arasındaki hücre davranışlarının farklılıklarını ortaya koymaktadır. Hücrelerin 3B olarak kültürlenmesi, hücre davranışlarının anlaşılabilirliği ve işlevlerinin geliştirilmesi için fizyolojik olarak daha uygun bir ortam sağlamaktadır. En yaygın 3B biyobaskı sistemleri, doğrudan lazer, mürekkep püskürtmeli, ekstrüzyon ve elektroegirmedi (Cohen ve ark., 2010; Keriquel ve ark., 2010). Her sistemin kendine göre avantaj ve dezavantajı bulunmaktadır. Baskı için kullanılacak hücreler ve biyomürekkepler biyobaskı sistemlerine göre farklılık göstermektedir. 3B biyobaskı işleminde sıklıkla hyalüronik asit, aljinat, kollajen ve hidrojel gibi malzemeler kullanılmaktadır (Murphy ve Atala, 2014). Son yıllarda eklemeli imalat yöntemleri yaygın olarak kullanılsa da bu yöntemlerin doku ve organları basmak için uzun üretim süresi, hücrelerin canlılığının korunamaması ve biyoaktivitesinin sınırlanması gibi dezavantajları bulunmakla birlikte maliyet ve standardizasyon gibi sorunları mevcuttur.

3.1. Hücre Kültürü Çalışmalarında 3B Model Tasarımının Evrimsel Süreci

Hücre kültür çalışmalarında 2B'den 3B'ye geçişin evrimsel süreci Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3: Hücre Kültürü Yöntemlerinin Şematik Gösterimi. Tek tabakalı 2B hücre kültüründen 3B hücre kültürüne geçişte kullanılan yöntemler sferoidler, asılı damla, hücre dışı yapı iskelesi, organoid, biyoreaktör, biyoyazıcılar ve organ-on-a-chips (çip üzerindeki organlar) olarak sınıflandırılmıştır.

3.1.1. Sferoid

Sferoidler, 3B ortamlarda büyüyen, herhangi bir kültür alt tabakasına yapışmayan ve kendi kendine birleşen hücre kümeleridir (Sant ve Johnston, 2017). Küresel formülasyonun oluşumunda zar proteinleri (integrinler) ve hücre dışı matris proteinleri rol oynamaktadır. Birçok sferoid oluşturma yöntemi bulunmaktadır. İlaçların ve nanopartiküllerin test edilmesinde ve hastalıkların modellenmesinde asılı damlalar, iskeleler ve hidrojeller dahil olmak üzere çeşitli teknikler kullanılır (Białkowska ve ark., 2020)

3.1.2. Asılı Damla

Asılı damla tekniği hücrelerin kültür kabının kapağı üzerinde damlalar şeklinde oluşmasıdır. Bu teknik yüzey gerilimi esasına dayanmaktadır. Asılı damlalarda hücreler, damlacıkların tepesinde 3B sferoidler oluşturmaktadır (Fennema ve ark., 2013). Sferoidler kültür kabının kapağı ters çevrildikten sonra hücrelerin yerçekimi ile damlanın dibinde yoğunlaşmasıyla oluşur (Ryu, Lee & Park,2019).Bu teknik için özelleştirilmiş hücre kültür kapları bulunmasına rağmen yöntemin özel ekipman gerektirmeden de yapılabiliyor olması avantajlarından ancak hücrelere ihtiyaç halinde gerekli bileşiklerin eklenmesi ve ortamın değiştirilmesindeki zorluklar bu yöntemi zaman alıcı ve karmaşık hale getirmektedir (Napolitano ve ark., 2007; Vantangoli ve ark., 2015).

3.1.3. Hücre Dışı Yapı İskelesi

Bu teknikte hücrelerin kendi kendine bir araya gelerek 3B sferoid mikrodokular oluşturması hücrelerin hidrojel üzerine ekilmesiyle sağlanmaktadır. Agaroz, fibrin, kollajen veya hyalüronik asit gibi çeşitli hidrojeller, 3B hücre kültüründe oldukça tercih edilen malzemeler arasındadır (Gu ve ark., 2018). Hücre küreselleşmesinin kolaylığı nedeniyle farklı tipte biyopolimerlerden yapılan hidrojeller sıklıkla kullanılmaktadır.

3.1.4. Biyoreaktörler

Biyoreaktörler, biyolojik bir süreci iyileştirmek, rafine etmek veya optimize etmek gibi konularda doku mühendisliği ve rejeneratif tıp alanlarında kullanılan cihazları kapsayan geniş bir kategoridir. Biyoreaktör terimi i-Biyolojik son ürünlerin üretilmesi (üretim biyoreaktörü), ii- Hücre veya kök hücre büyümesi (hücre biyoreaktörü) ve iii- doku mühendisliği (doku biyoreaktörü) uygulamalarında kullanılmaktadır (Kaasi ve Jardini, 2016). Biyoreaktörler, hücre büyümesini, farklılaşmasını ve doku oluşumunu etkilemek için besinlerin ve biyomimetik uyarıların kontrollü dağıtımını sağlamaktadır (Stephenson ve Grayson, 2018). Biyoreaktörler, *in vitro* 3B iskeleler yoluyla doku

mühendisliği için simülasyonlar olarak kullanılabilirler ve farklı hücre kültürü gereksinimlerini karşılarlar (Ismadi ve ark., 2014; Zhang ve ark., 2021).

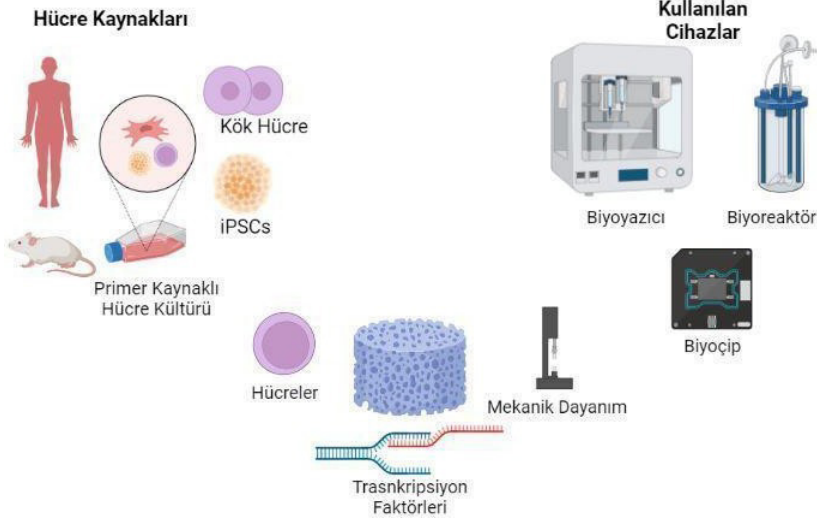
3.1.5. Organoidler

Bir doku ya da organın yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin hemen hemen aynısını yansıtan 3B hücre kültürleri organoidler olarak adlandırılmaktadır. Organoidler geleneksel 2B ve 3B hücre kültürlerine göre insan fizyolojisini daha iyi yansıttıklarından dolayı günümüzde popüler bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Kratovich ve ark., 2019). ‘Organoid’ olarak adlandırılan bu mini organ kültürleri, yenidoğan dokuları, pluripotent/indüklenmiş pluripotent kök hücreleri, doku biyopsileri ve yetişkin kök hücreleri dahil olmak üzere çeşitli kaynaklardan oluşmaktadır (Spence ve ark., 2011). Organoidler hastalık modelleri, kanser araştırmaları, rejeneratif tıp, ilaç keşfi ve kişiselleştirilmiş tedaviler dahil olmak üzere geniş çapta kullanılmakta olup sürekli gelişmeye devam etmektedir (Horrobin, 2003; HogenEsch ve Nikitin, 2012). Organoid oluşumunu destekleyen ve teşvik eden biyomalzemelerin geliştirilmesi ve uygulanması organoidlerin tekrar üretilebilirliğini ve farklı deneylerin uygulanabilirliği açısından büyük öneme sahiptir (Huang ve ark., 2017).

3.1.6. Organ-on-a-chips

Organ-on-a-chips, (çip üzerindeki organlar) canlı hücrelerin kültürlenmesi ve gözlemlenmesi için kullanılan mikroakışkan kültür cihazlarıdır (Bhatia ve Ingber, 2014). Çipler, organlar arasında haberleşmeye, özellikle de organların salgılama işlevlerine ilişkin bilgileri geliştirebilir. Bu teknolojinin gelecekte laboratuvar hayvanlarının kullanımında ciddi bir azalma sağlayacağı ve ilaç araştırma-geliştirmenin gücü olacağı öngörülmektedir (Bhatia ve Ingber, 2014). Organ-on-a-chip, organ patofizyolojisini simüle etmek için hücrelerin kullanılmasıyla mikroçip üretim stratejileri kullanılarak oluşturulan mikroakışkan mobil geleneksel cihazlardır (Hassell ve ark., 2017). Organ-on-a-chip teknolojisi biyotıpta yeni ufuklar açtıkça, organları ve mikroçevrelerini oluşturmak, düzenlemek ve değerlendirmek için yaratıcı mühendislik yöntemleri oluşturmak önem kazanmaktadır (Park ve ark., 2019).

3B hücre kültüründeki güncel modeller yukarıda anlatılmıştır. Bu modeller için gerekli temel parçalar Şekil 4’te gösterilmiştir.



Şekil 4. Hücre Kültürünün Geleceğini Oluşturan Temel Parçaların Şematik Gösterimi. Primer hücre kültürü elde edilen hücre kaynakları hayvan ve insan primer hücresi, iPSCs ve insan kök hücresi 'dir. Hücrelerin mekanik bir sistem içerisinde üretilmesini sağlayan biyoyazıcı, biyoreaktör ve biyoçipler yer almaktadır. Temel olarak transkripsiyon faktörleri ile hücre kaynakları içeren mekanik dayanımı olan sistemler oluşturulmaya çalışılmaktadır.

SONUÇ

Hücre kültürü biyolojik mekanizmaları ve hastalık süreçlerini anlayabilmek için günümüzde ilk bilimsel adım olarak uygulanan temel bir hücre modelleme yöntemidir. Hücre kültürü ortaya çıktığı 20. yüzyıldan günümüze kadar sürekli değişim ve gelişim içerisinde olmuştur. Bilimsel çalışmalar hastalıkların patofizyolojisinin anlaşılmasında, ilaç ve aşı çalışmalarında, kanser çalışmalarında kullanılmıştır. Hücre kültürü çalışmaları uzun yıllar boyunca 2B hücrekültür çalışmaları olarak devam etmesine rağmen hem *in vivo* mimariyi hem de hücre-hücre etkileşimini yansıtmada yetersiz kalması araştırmacıları yeni arayışlara yönlendirmiştir. Bu noktada 3B hücre kültürü teknikleri olarak sferoidler, asılı damla, hücre dışı yapı iskelesi, organoid, biyoreaktör, biyoyazıcılar ve organ-on-a-chips (çip üzerindeki organlar) teknolojileri kullanılmıştır.

Bu teknikler *in vivo* ortamı, hücre hücre etkileşimleri ve iletişimlerini daha

iyi yansıtırlar fakat her yöntemin kendi içerisinde de çeşitli sınırlamalarının bulunması bu tekniklerin gelişmeye ihtiyaç duyuyor olmasını kanıtlar. Dolayısıyla günümüzde hücre kültürü ve yapay organ çalışmaları gelişmeye devam etmektedir. Hücre kültürü alanında yapılan güncel çalışmalar ve geliştirilen tekniklerle *in vitro* kültür çalışmalarının gelecekte *in vivo* fizyolojiyi daha iyi yansıtacağı öngörülmektedir.

KAYNAKÇA

- Alblawi, A., Ranjani, A. S., Yasmin, H., Gupta, S., Bit, A., & Rahimi-Gorji, M. (2020). Scaffold-free: A developing technique in field of tissue engineering. *Computer methods and programs in biomedicine*, 185, 105148.
- Alghuwainem, A., Alshareeda, A. T., & Alsowayan, B. (2019). Scaffold-Free 3-D Cell Sheet Technique Bridges the Gap between 2-D Cell Culture and Animal Models. *International journal of molecular sciences*, 20(19), 4926.
- ATCC. "Cell Product". Erişim: 14.12.2022.
<https://www.atcc.org/cell-products#t=productTab&numberOfResults=24>
- Athanasiou, K. A., Eswaramoorthy, R., Hadidi, P., & Hu, J. C. (2013). Self-organization and the self-assembling process in tissue engineering. *Annual review of biomedical engineering*, 15, 115–136.
- Baker, B. M., & Chen, C. S. (2012). Deconstructing the third dimension: how 3D culture microenvironments alter cellular cues. *Journal of cell science*, 125(Pt 13), 3015–3024.
- Bédard, P., Gauvin, S., Ferland, K., Caneparo, C., Pellerin, È., Chabaud, S., & Bolduc, S. (2020). Innovative Human Three-Dimensional Tissue-Engineered Models as an Alternative to Animal Testing. *Bioengineering (Basel, Switzerland)*, 7(3), 115.
- Bhatia, S. N., & Ingber, D. E. (2014). Microfluidic organs-on-chips. *Nature biotechnology*, 32(8), 760–772.
- Białkowska, K., Komorowski, P., Bryszewska, M., & Miłowska, K. (2020). Spheroids as a Type of Three-Dimensional Cell Cultures-Examples of Methods of Preparation and the Most Important Application. *International journal of molecular sciences*, 21(17), 6225.
- Brigo, L., Urciuolo, A., Giulitti, S., Della Giustina, G., Tromayer, M., Liska, R., Elvassore, N., & Brusatin, G. (2017). 3D high-resolution two-photon crosslinked hydrogel structures for biological studies. *Acta biomaterialia*, 55, 373–384.
- Cohen, D. L., Lipton, J. I., Bonassar, L. J., & Lipson, H. (2010). Additive manufacturing for in situ repair of osteochondral defects. *Biofabrication*, 2(3), 035004.
- Duval, K., Grover, H., Han, L. H., Mou, Y., Pegoraro, A. F., Fredberg, J., & Chen, Z. (2017). Modeling Physiological Events in 2D vs. 3D Cell Culture. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 32(4), 266–277.
- Edmondson, R., Broglie, J. J., Adcock, A. F., & Yang, L. (2014). Three-dimensional cell culture systems and their applications in drug discovery and cell-based biosensors. *Assay and drug development technologies*, 12(4), 207–218.

- Fang, Y., & Eglén, R. M. (2017). Three-Dimensional Cell Cultures in Drug Discovery and Development. *SLAS discovery : advancing life sciences R & D*, 22(5), 456–472.
- Faridi, N., Bathaie, S. Z., Abroun, S., Farzaneh, P., Karbasian, H., Tamanoi, F., & Mohagheghi, M. A. (2018). Isolation and characterization of the primary epithelial breast cancer cells and the adjacent normal epithelial cells from Iranian women's breast cancer tumors. *Cytotechnology*, 70(2), 625–639.
- Fennema, E., Rivron, N., Rouwkema, J., van Blitterswijk, C., & de Boer, J. (2013). Spheroid culture as a tool for creating 3D complex tissues. *Trends in biotechnology*, 31(2), 108–115.
- Griffith, L. G., & Swartz, M. A. (2006). Capturing complex 3D tissue physiology in vitro. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 7(3), 211–224.
- Gu, B. K., Choi, D. J., Park, S. J., Kim, Y. J., & Kim, C. H. (2018). 3D Bioprinting Technologies for Tissue Engineering Applications. *Advances in experimental medicine and biology*, 1078, 15–28.
- Harrison, R. G. (1906). Observations on the living developing nerve fiber. *Proceedings of the society for experimental biology and medicine*, 4(1), 140–143.
- Hassell, B. A., Goyal, G., Lee, E., Sontheimer-Phelps, A., Levy, O., Chen, C. S., & Ingber, D. E. (2017). Human Organ Chip Models Recapitulate Orthotopic Lung Cancer Growth, Therapeutic Responses, and Tumor Dormancy In Vitro. *Cell reports*, 21(2), 508–516.
- Heydari, Z., Moeinvaziri, F., Agarwal, T., Pooyan, P., Shpichka, A., Maiti, T. K., Timashev, P., Baharvand, H., & Vosough, M. (2021). Organoids: a novel modality in disease modeling. *Bio-design and manufacturing*, 4(4), 689–716.
- HogenEsch, H., & Nikitin, A. Y. (2012). Challenges in pre-clinical testing of anti-cancer drugs in cell culture and in animal models. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 164(2), 183–186.
- Horrobin D. F. (2003). Modern biomedical research: an internally self-consistent universe with little contact with medical reality?. *Nature reviews. Drug discovery*, 2(2), 151–154.
- Huang, B. W., & Gao, J. Q. (2018). Application of 3D cultured multicellular spheroid tumor models in tumor-targeted drug delivery system research. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 270, 246–259.
- Huang, G., Li, F., Zhao, X., Ma, Y., Li, Y., Lin, M., Jin, G., Lu, T. J., Genin, G. M., & Xu, F. (2017). Functional and Biomimetic Materials for Engineering of the Three-Dimensional Cell Microenvironment. *Chemical reviews*, 117(20), 12764–12850.

- Ismadi, M. Z., Gupta, P., Fouras, A., Verma, P., Jadhav, S., Bellare, J., & Hourigan, K. (2014). Flow characterization of a spinner flask for induced pluripotent stem cell culture application. *PLoS one*, 9(10), e106493.
- Kaasi, A., & Jardini, A. L. (2016). Bioreactors.
- Kapalczyńska, M., Kolenda, T., Przybyła, W., Zajączkowska, M., Teresiak, A., Filas, V., Ibbs, M., Bliźniak, R., Łuczewski, Ł., & Lamperska, K. (2018). 2D and 3D cell cultures - a comparison of different types of cancer cell cultures. *Archives of medical science* : AMS, 14(4), 910–919.
- Keriquel, V., Guillemot, F., Arnault, I., Guillotin, B., Miraux, S., Amédée, J., Fricain, J. C., & Catros, S. (2010). In vivo bioprinting for computer- and robotic-assisted medical intervention: preliminary study in mice. *Biofabrication*, 2(1), 014101.
- Kosheeka. “Advantages and Disadvantages of Using Primary Cells in Cell Culture”. Erişim: 18.12.2022.
<https://kosheeka.com/advantages-and-disadvantages-of-using-primary-cells-in-cell-culture/>
- Kratochvil, M. J., Seymour, A. J., Li, T. L., Paşca, S. P., Kuo, C. J., & Heilshorn, S. C. (2019). Engineered materials for organoid systems. *Nature reviews. Materials*, 4(9), 606–622.
- Langhans S. A. (2018). Three-Dimensional *in Vitro* Cell Culture Models in Drug Discovery and Drug Repositioning. *Frontiers in pharmacology*, 9, 6.
- Lee, J., Cuddihy, M. J., & Kotov, N. A. (2008). Three-dimensional cell culture matrices: state of the art. *Tissue engineering. Part B, Reviews*, 14(1), 61–86.
- Lin, R. Z., & Chang, H. Y. (2008). Recent advances in three-dimensional multicellular spheroid culture for biomedical research. *Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology*, 3(9-10), 1172-1184.
- Lv, D., Hu, Z., Lu, L., Lu, H., & Xu, X. (2017). Three-dimensional cell culture: A powerful tool in tumor research and drug discovery. *Oncology letters*, 14(6), 6999–7010.
- MacDonald C. (1990). Development of new cell lines for animal cell biotechnology. *Critical reviews in biotechnology*, 10(2), 155–178.
- Mak, I. W., Evaniew, N., & Ghert, M. (2014). Lost in translation: animal models and clinical trials in cancer treatment. *American journal of translational research*, 6(2), 114–118.
- Mapanao, A. K., & Voliani, V. (2020). Three-dimensional tumor models: Promoting breakthroughs in nanotheranostics translational research. *Applied Materials Today*, 19, 100552.
- Mazzoleni, G., Di Lorenzo, D., & Steimberg, N. (2009). Modelling tissues in 3D: the

- next future of pharmaco-toxicology and food research. *Genes & nutrition*, 4(1), 13–22.
- Mitra, A., Mishra, L., & Li, S. (2013). Technologies for deriving primary tumor cells for use in personalized cancer therapy. *Trends in biotechnology*, 31(6), 347–354.
- Murphy, S. V., & Atala, A. (2014). 3D bioprinting of tissues and organs. *Nature biotechnology*, 32(8), 773–785.
- Napolitano, A. P., Dean, D. M., Man, A. J., Youssef, J., Ho, D. N., Rago, A. P., Lech, M. P., & Morgan, J. R. (2007). Scaffold-free three-dimensional cell culture utilizing micromolded nonadhesive hydrogels. *BioTechniques*, 43(4), 494–500.
- Nyga, A., Cheema, U., & Loizidou, M. (2011). 3D tumour models: novel in vitro approaches to cancer studies. *Journal of cell communication and signaling*, 5(3), 239–248.
- Ovsianikov A., Khademosseini A., Mironov V. The synergy of scaffold-based and scaffold-free tissue engineering strategies. *Trends Biotechnol.* 2018;36:348–357.
- Price P. J. (2017). Best practices for media selection for mammalian cells. *In vitro cellular & developmental biology. Animal*, 53(8), 673–681.
- Richter, M., Piwocka, O., Musielak, M., Piotrowski, I., Suchorska, W.M., & Trzeciak, T. (2021). From Donor to the Lab: A Fascinating Journey of Primary Cell Lines. *Frontiers in cell and developmental biology*, 9, 711381.
- Rothblat G (2012). Growth, nutrition, and metabolism of cells in culture V3 (C. 3). Elsevier
- Ryu, N. E., Lee, S. H., & Park, H. (2019). Spheroid Culture System Methods and Applications for Mesenchymal Stem Cells. *Cells*, 8(12), 1620.
- Sant, S., & Johnston, P. A. (2017). The production of 3D tumorspheroids for cancer drug discovery. *Drug discovery today. Technologies*, 23, 27–36.
- Scherer, W. F., Syverton, J. T., & Gey, G. O. (1953). Studies on the propagation in vitro of poliomyelitis viruses. IV. Viral multiplication in a stable strain of human malignant epithelial cells (strain HeLa) derived from an epidermoid carcinoma of the cervix. *The Journal of experimental medicine*, 97(5), 695–710.
- Schurr, M. J., Foster, K. N., Centanni, J. M., Comer, A. R., Wicks, A., Gibson, A. L., Thomas-Virnig, C. L., Schlosser, S. J., Faucher, L.D., Lokuta, M. A., & Allen-Hoffmann, B. L. (2009). Phase I/II clinical evaluation of StrataGraft: a consistent, pathogen-free human skin substitute. *The Journal of trauma*, 66(3), 866–874.
- Segeritz, C. P., & Vallier, L. (2017). Cell culture: Growing cells as model systems in vitro. In *Basic science methods for clinical researchers* (pp. 151-172). Academic Press.
- Sharma, S. V., Haber, D. A., & Settleman, J. (2010). Cell line-based platforms to evaluate the therapeutic efficacy of candidate anticancer agents. *Nature reviews*.

Cancer, 10(4), 241–253.

- Shoemaker R. H. (2006). The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen. *Nature reviews. Cancer*, 6(10), 813–823.
- Spence, J. R., Mayhew, C. N., Rankin, S. A., Kuhar, M. F., Vallance, J. E., Tolle, K., Hoskins, E. E., Kalinichenko, V. V., Wells, S. I., Zorn, A. M., Shroyer, N. F., & Wells, J. M. (2011). Directed differentiation of human pluripotent stem cells into intestinal tissue in vitro. *Nature*, 470(7332), 105–109.
- Stephenson, M., & Grayson, W. (2018). Recent advances in bioreactors for cell-based therapies. *F1000Research*, 7, F1000 Faculty Rev-517.
- Temple, J., Velliou, E., Shehata, M., & Lévy, R. (2022). Current strategies with implementation of three-dimensional cell culture: the challenge of quantification. *Interface focus*, 12(5), 20220019.
- Tibbitt, M. W., & Anseth, K. S. (2009). Hydrogels as extracellular matrix mimics for 3D cell culture. *Biotechnology and bioengineering*, 103(4), 655–663.
- Vantangoli, M. M., Madnick, S. J., Huse, S. M., Weston, P., & Boekelheide, K. (2015). MCF-7 Human Breast Cancer Cells Form Differentiated Microtissues in Scaffold-Free Hydrogels. *PloS one*, 10(8), e0135426.
- Vázquez, S. M., Mladovan, A., Garbovesky, C., Baldi, A., & Lüthy, I. A. (2004). Three novel hormone-responsive cell lines derived from primary human breast carcinomas: functional characterization. *Journal of cellular physiology*, 199(3), 460–469. <https://doi.org/10.1002/jcp.10466>
- Weiswald, L. B., Bellet, D., & Dangles-Marie, V. (2015). Spherical cancer models in tumor biology. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 17(1), 1–15.
- Zhang, J., Wehrle, E., Rubert, M., & Müller, R. (2021). 3D Bioprinting of Human Tissues: Biofabrication, Bioinks, and Bioreactors. *International journal of molecular sciences*, 22(8), 3971.
- Zhu, W., Ma, X., Gou, M., Mei, D., Zhang, K., & Chen, S. (2016). 3D printing of functional biomaterials for tissue engineering. *Current opinion in biotechnology*, 40, 103-112.

YAZARLAR HAKKINDA KISA BİLGİ

Dr. Öğretim Üyesi Seçil YILMAZ

Dr. Öğretim Üyesi Seçil YILMAZ, doktorasını Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda tamamlamıştır. Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Merkezi'nde kanser alanında çalışmalarını sürdürmektedir.

Medine DOĞAN SARIKAYA

Bartın Üniversitesi'nde Moleküler Biyoloji ve Genetik lisansını tamamlamıştır. Yüksek lisans eğitimini Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Merkezi'nde Kök Hücre Anabilim Dalı'nda bitirmiş olup yine aynı merkezde doktora eğitimine devam etmektedir.

Elif Afra BEŞPARMAK

Erciyes Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği bölümünde lisans eğitimini tamamlamıştır. Yüksek lisans eğitimini Genom ve Kök Hücre Merkezi'nde Kök Hücre Anabilim Dalı'nda sürdürmektedir.

Zehra VAROL

Erciyes Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği bölümünde lisans eğitimini tamamlamıştır. Yüksek lisans eğitimini Genom ve Kök Hücre Merkezi'nde Kök Hücre Anabilim Dalı'nda sürdürmektedir.

Muhammed Sabit KIYICI

Erciyes Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik bölümünde lisans eğitimini tamamlamıştır. Yüksek lisans eğitimini Genomve Kök Hücre Merkezi'nde Kök Hücre Anabilim Dalı'nda sürdürmektedir.

6. BÖLÜM

ORGANİZMANIN GÜVENLİK GÖREVLİLERİ: MÜSİNLER

Nurşin AYDIN
Dicle Üniversitesi
nursinaydin21@gmail.com

Prof. Dr. Muzaffer Aydın KETANİ
Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD
maketani@gmail.com
ORCID: 0000-0002-1546-9747

GİRİŞ

Müsinler, salyangozdan insana kadar hatta maya ve bakterilerde dahil olmak üzere kısacası tüm hayvan aleminde bulunan ve yaşam için gerekli olan temel bir bileşendir (Ünüböl & Uysal, 2010: 107). Teknik olarak keşfedilmiş ilk müsin tükürük bezinden elde edilmiştir ve ilk isimlendirmesi de Carpenter tarafından yapılmıştır (Bancroft & Stevens, 1982: 180). Müsinleri o-bağlı glikanlara sahip olarak tanımlayan ve peptid dizilerinin art arda tekrarlandığını fark eden ilk kişi de W. Pigman'dı (Pigman, Moschera & Weiss, 1973: 148). Müsin terimi yerine zaman zaman glikokonjugatlar, mukoid maddeler ve mukopolisakkaritler de kullanılabilmektedir (Yakan, 1990: 293).

Müsinler; memeli organizmasında, bir bariyerin gerekli olduğu ve dış ortamla teması olan yerlerde bulunan glikoprotein ve proteoglikan tabiatlı bir bileşendir (Aydın, Ketani & Topaloğlu, 2022: 1869). Buldukları yerlerde mukusun bir alt bileşeni olarak mevcuttur (Kishioka, Chenk & Seftor, 1997: 480). Solunum sistemi, gastrointestinal sistem, üriner ve genital sistem, müsinlerin varlığının hayati derecede önemli olduğu yerlerdir. Genel olarak

faydalı mikroorganizmaların tutunabileceği gerekli ortamı sağlamak, kayganlaştırmak, patojen mikroorganizmaların ve alerjen maddelerin tutunmasını engellemek, histotrof beslenme sağlamak, dehidrasyonu önlemek, solunan partikülleri hapsedmek, epitel hücrelerini fiziksel ve kimyasal yaralanmaya karşı korumak gibi işlevlere sahip olması müsinlerin ne denli önem arz ettiğini ortaya koymaktadır (Carson, Souza & Regisford, 1998: 577; Koçer, Soran & Cengiz, 2000:145; Gray, Taylor & Ramsey, 2001: 1608). Bu özellikleri kazandıran, esasında kütlelin yaklaşık olarak %50-90' ını oluşturan glikosilasyon sürecidir. (Johansson, 2009).

1. HİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLER

Histokimyasal ayrımına göre müsinler en temelde nötral ve asit müsinler olmak üzere ikiye ayrılır. Nötral müsinler reaktif asit kökü içermez, ancak serbest hekzos grupları taşırlar. Asit müsinler sülfatlı (sülfomüsin) ve karboksilli (sialomüsin) müsinler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Sülfatlı asit müsinler sülfatlı glukuronik asit içerirken, karboksilli asit müsinler ise sialik asit molekülleri içerirler (Schumacher, Duku & Katoh, 2004: 540).

Memeli organizmasında genelde benzer işlevlere sahip olan genler ortak bir ataya dayanır. Fakat bu durumdan farklı olarak müsinlerin gen profilleri incelendiğinde evrimsel olarak bir benzerliğin olmadığı yani tek bir ataya dayanmadığı bulunmuştur (Pajic, Shen & Qu, 2022: 1). Bunun nedeni müsinlerin tandem tekrarlardan oluşması (merkezi kısmı oluşturan prolin, serin ve treonin proteinlerine, oligosakkarit zincirlerinin bağlanması durumu) (Karakoç, 2014) ve buna göre merkezi kısma bağlanan her bir oligosakkarit zincirinin farklı bir müsin tipini meydana getirmesi veya müsin olmayan bir geni müsinleştirebilmesidir (Pajic vd., 2022: 1). Bu sebepten ötürü tüm müsin genleri tek bir ataya dayandırılmamaktadır. Bu tekrarların sayısı ve aminoasitlerin dizilimindeki farklılıklar baz alınarak 'c-DNA cloning' yoluya günümüze kadar 21 müsin geni tanımlanmıştır (Gendler & Spicer, 1995: 607; Dekker, Rossen & Büller, 2002: 126). Tanımlanan genler MUC1, 2, 3A, 3B, 4, 5AC, 5B, 6-9, 11-13 ve 15-20 olarak isimlendirilmiştir (Gendler vd., 1995: 607; Porchet, Buisine & Desseyn, 1999: 85) Pajic ve arkadaşları (2022) yapmış oldukları çalışmalarında sadece insanlarda bulunan ve MUC22 olarak adlandırdıkları bir müsin tipi ve müsinom veri tabanının biyokimyasal karakterizasyonlarına

dayanarak müsün genlerinin tüm özelliklerini taşıyan 13 gen daha keşfettilerini ortaya koymuşlardır (Pajic vd., 2022: 1). Fakat bu bulguların başka çalışmalarla da desteklenmesi gerekmektedir.

2. MUC Tipleri

İşlevsel olarak transmembran ve jel oluşturan müsünler olmak üzere farklı iki müsün ailesi tanımlanmıştır (Johansson, 2009). Transmembran müsünler Tip 1 olarak sınıflandırılmıştır ve Muc 1, 3A ve 3B, 4, 12, 13, 15, 16, 17, 20, 21 ve 22 genlerini kapsar (Johansson, 2009; Jonckheere. Auwerx & Bachir, 2020: 2). Jel oluşturan müsünler ise Muc 2, 5AC ve 5B, 6, 7, 8, 9 ve 19 genlerini kapsar (Jonckheere vd., 2020: 2). ayrıca kanserde iki ek atipik endotelial müsün tanımlanmıştır ki bunlar Muc 14 ve 18'dir (Jonckheere vd., 2020: 2). Jel oluşturan müsünler epitelleri kaplayan mukus katmanında görev alırken membran bağımlı müsünler ise hücre-hücre etkileşimlerinde ve apoptozda yer alan sinyal yollarını düzenlemede rol alır (Putten & Strijbis, 2016: 281).

Muc 1: Membran bağımlı müsün tipidir. En çok ve ilk olarak çalışılan tipidir. meme dokusu, tükürük bezi, özefagus, mide, pankreas, karaciğer, safra kesesi, duodenum, akciğer, böbrek, vesika ürineriya, prostat, uterus, testis, epitel hücrelerinden eksprese edilmektedir (Karakoç, 2014; Karakoç, Topaloğlu & Ketani, 2020: 384). Kanserli dokulardaki ekspresyonu normal dokulara oranla daha fazladır. Hatta normal kolon da mevcut değilken veya önemsiz bir seviyede iken kolon kanserinde ekspresyonu önemli derecede mevcuttur. Bu da kanserde bir marker olarak kullanılabileceğini gösterir (Koçer, 2000: 145).

Muc 2: Jel oluşturan müsün tipidir. Muc' lar arasında en iyi tanımlanmış olan 11p15 müsün ailesindedir (Dekker vd., 2002: 126; Johansson, 2009) Bağırsağın esas müsünü iken az bir miktar da testis, prostat, trake ve mideden salındığı rapor edilmiştir (Moehle, Ackermann & Langmann, 2006: 1055). Fakat bağırsakta da sadece epitel kısmı ile sınırlı kalmıştır (Gum, Hick & Kim 1997: 259; Koçer vd., 2000: 145). Goblet hücrelerinde nükleer ve perinükleer alanlarda bulunurlar ve uyarıldıkları taktirde salınırlar (Koçer vd., 2000: 145)

Muc 3: Bağırsakta eksprese edilen müsünlerdendir (Linden, Florin & McGuckin, 2008). Kemirgenlerdeki Muc 3 insanlardaki Muc 17 ile ortologdur (aynı atadan ayrılmış farklı türlerde bulunan genlerdir) (Johansson, 2009; Pajic vd., 2022: 1). Bağırsaktan eksprese edilen diğer Muc 4, 12, 13 ve 17 ile

birlikte hücre yüzeyinden uzakta oldukları -ki epitelden eksprese edilirler- bulunmuş ve bu durum lümen ortamının sensörleri olarak işlev görüyor olabileceklerini düşündürmüştür (Johansson, 2009). Ayrıca yapı iskelet proteinleri aracılığı ile diğer molleküller ile etkileşime girebilirler ve proteinler bunu müsinlerin stoplazmik kuyruklarının C-terminal ucundaki PDZ motiflerini kullanarak sağlarlar. Aynı durum Muc 12 ve 17 için de geçerlidir (Malmberg, Pelasey & Petersson, 2008: 283)

Muc 4: Membran bağımlı müsin tipidir. Respiratuvar, genital ve üriner sistemlerinde epitel ve bez hücrelerden salgılanır (Koçer vd., 2000: 145). Az miktarda da ince bağırsak ve mideden salınırken normal kolonda da bulunabilmektedir (Willem, Klinken & Dekker, 1997:296). Normal pankreas dokusunda bulunmazken pankreas karsinomlarında yüksek oranda eksprese edilmektedir (Cicarelli, Doerks & Bork, 2002: 113). Bağırsaktan eksprese edilen diğer Muc 3, 12, 13 ve 17 ile birlikte hücre yüzeyinden uzakta oldukları -ki epitelden eksprese edilirler- bulunmuş ve bu durum lümen ortamının sensörleri olarak işlev görüyor olabileceklerini düşündürmüştür (Johansson, 2009).

Muc 5AC: Jel oluşturan müsindir. Muc' lar arasında en iyi tanımlanmış olan 11p15 müsin ailesindedir (Dekker vd., 2002: 126; Johansson, 2009) Başlangıçta A ve C olarak iki tip olarak sınıflandırılmış ise de aynı oldukları anlaşılıp tek bir tip olarak düzenlenmişlerdir (Koçer vd., 2000: 145). Özellikle respiratorik ve gastrik mukozadan yüzeyel hücrelerden ve boyun hücrelerinden kuvvetli bir şekilde eksprese edilmektedir (Koçer vd., 2000: 145; Karakoç, 2014).

Muc 5B: Hava yolu bezleri tarafından salgılanan ana jel oluşturucu müsindir (Widdicombe & Wine, 2015: 1241). Muc' lar arasında en iyi tanımlanmış olan 11p15 müsin ailesindedir (Dekker vd., 2002: 126; Johansson, 2009) Bu genden yoksun transgenik farelerle yapılan çalışmalar mukosilyer klirensin azaldığını ve nazofarenkste çeşitli mikroorganizmalarla enfekte olan mukus tıkaçlarının geliştiğini göstermiştir. Ayrıca doğumdan sonra kilo alımının ve hayatta kalma oranlarının azaldığı da diğer bulguları (Roy, Livraghi-Butrico & Fletcher, 2014: 412).

Muc 6: Muc' lar arasında en iyi tanımlanmış olan 11p15 müsin ailesindedir (Dekker vd., 2002: 126; Johansson, 2009). Muc 5AC ile birlikte midenin esas iki mukusundan biridir. Safra kesesinden de yoğun olarak salınır (Karakoç, 2014). Ayrıca normal kolon mukozasında bulunmamasına rağmen adeno-

matöz poliplerde görülmesi bir malign transformasyon durumunu göstermede spesifik marker olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Koçer vd., 2000: 145). Bu durum Muc 5AC için de geçerlidir.

Muc 7: Tükürük bezinden küçük küçük salınan müsin tipidir ayrıca jel oluşturmayan tek müsin (Johansson, 2009).

Muc 8: Jel oluşturan ve membran bağımlı müsinlere dahil edilmemiş ayrıca da sınıflandırılmamış müsin tipidir (Zhang, 2007). Solunum yolu müsinidir. Fakat çok az eksprese edilmekte ve fonksiyonel işlevi bilinmemektedir. Fakat kronik rinosinüzitli hastaların sinüslerinde aşırı eksprese edildiği bildirilmiştir (Cha & Song, 2018: 2). Ayrıca yine aynı çalışmanın sonuçlarına göre Muc 8'in inflamatuvar cevaba katılan bir müsin olarak işlev görebileceği, anti-inflamatuvar yanıtları indükleyebileceği muhtemeldir (Cha vd., 2018: 2).

Muc 9: Jel oluşturan ve membran bağımlı müsinlerden ayrı olarak sınıflandırılmamış bir diğer müsin tipidir (Zhang, 2007). Oviductin olarak da bilinir. Oviduct sıvısının bir bileşeni olarak fertilizasyona katılır, erken embriyonik gelişimi kolaylaştırır ve tubal epiteli korur (Hendrix, Hewetson & Mansharamani, 2001: 2151).

Muc 10: Tükürük bezinin salgıladığı ana müsin (Peluso, Tian & Abuseleme, 2020: 1411).

Muc 11: Jel oluşturan ve membran bağımlı müsinlerden ayrı olarak sınıflandırılmamış bir diğer müsin tipidir (Zhang, 2007). Normal olarak ülseratif kolitte ifade edilir fakat kolon neoplazisinde aşağı regüle olduğu yapılan çalışmayla orta konmuştur (Leiper, Rhodes & Campbell, 2000).

Muc 12: Transmembran müsinlerdendir. Kolon ve ince bağırsakta normal olarak eksprese edilmektedir (Pham, Friedrich & Aeffner, 2021: 1977). Az miktarda da uterus, prostat ve pankreastan salınmaktadır (Iranmanesh, Majd & Mojarad, 2021: 31). Bağırsaktan eksprese edilen diğer Muc 3, 12, 13 ve 17 ile birlikte hücre yüzeyinden uzakta oldukları -ki epitelden eksprese edilirler- bulunmuş ve bu durum lümen ortamının sensörleri olarak işlev görüyor olabileceklerini düşündürmüştür (Johansson, 2009).

Muc 13: Transmembran müsinidir ve yoğun olarak bağırsak ve trakeada eksprese edilir (Williams, Wreschner & Tran, 2001: 18327). Ayrıca böbrek, ince bağırsak, apendix ve midede de eksprese edilmektedir (Williams vd., 2001: 18327). Diğer müsinlerin aksine kolorektal kanserli doku çalışmalarına

göre kanserli dokuda normal dokuya kıyasla daha az eksprese edildiği görülmüştür Williams vd., 2001: 18327).

Muc 14: Atipik endotelyal müsin olarak tanımlanmıştır (Jonckheere vd., 2020: 2). Endotel-lökosit birleşimini inhibe etme davranışını göstermesinden dolayı özellikle mide kanserinde prognoz marker'ı olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Jonckheere vd., 2020: 2).

Muc 15: Membran bağımlı müsin tipidir. Renal hücreli karsinom olarak adlandırılan böbrek kanserinde bu müsin tipi, aşağı regüle edildiği ve bunun sonucunda da anormal hücre göçünü yani metastazı inhibe ettiği ortaya konmuştur (Yue, Hui & Wu, 2020: 2).

Muc 16: Membran bağımlı müsin tipidir. Meme, yumurtalık ve pankreas tümörlerinde aşırı eksprese edilir ve metastaz mekanizmasına katkıda bulunur (Aithal, Rauth & Kshirsagar, 2018: 1)

Muc 17: Membran bağımlı müsin tipidir. Bağırsaktan eksprese edilen diğer Muc 4, 12, 13 ve 17 ile birlikte hücre yüzeyinden uzakta oldukları -ki epitelden eksprese edilirler- bulunmuş ve bu durum lümen ortamının sensörleri olarak işlev görüyor olabileceklerini düşündürmüştür (Johansson, 2009). Ayrıca yapı iskelet proteinleri aracılığı ile diğer moleküller ile etkileşime girebilirler ve proteinler bu etkileşimi, müsinlerin stoplazmik kuyruklarının C-terminal ucundaki PDZ motiflerini kullanarak gerçekleştirirler. Aynı durum Muc 12 ve 17 için de geçerlidir (Malmberg vd., 2008: 283).

Muc 18: Atipik endotelyal müsin olarak tanımlanmıştır (Jonckheere vd., 2020: 2). Melanom ile ilişkili bir glikoprotein olduğundan melanom hücre adezyon molekülü olarak da bilinir. Ayrıca safra kesesi ve pankreas kanseri olgularında da saptanmıştır (Jonckheere vd., 2020: 2).

Muc 19: Jel oluşturu müsin tiplerindedir. Gastrointestinal bezlerde, subtrakeal bezlerde, bağışıklık sistemi organlarında, konjonktiva ve lakrimal bezde yüksek oranda eksprese edilmektedir (Zhou, Huang & Xu, 2021: 1).

Muc 20: Transmembran tip müsinidir. İnsanda en yoğun olarak böbrek proksimal tübüllerde orta yoğunlukta da kolon, akciğer, karaciğer ve prostatta eksprese edilmektedir (Higuchi, Orita & Nakanishi, 2004: 1968).

Muc 21: Transmembran müsin tipidir. Kolon, timüs ve akciğerde eksprese edilmektedir. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada normal bronşların yanında tümörlü bronşların da Muc21 i eksprese ettiği ifade edilmiştir (Itoh, Kama-

ta-Skurai & Denda-Nagai, 2008: 74).

Muc 22: Aslında bu müsin tipi bazılarında göre membran bağımlı müsin tipi içerisinde sınıflandırılmış ise de(Johansson, 2009; Jonckheere vd., 2020: 2) Dekker ve arkadaşları Muc 22'yi Muc 7 ve 16 ile birlikte mevcut iki tip sınıf içerisinde dahil etmez ve bunları 'orphan' yani yetim olarak adlandırır (Dekker vd., 2002: 126). Bunun sebebini de diğer müsin veya başka genlerle ortoloğu olmamasına dayandırır (Pajik vd., 2022: 1). Sadece insana özgü bir müsin genidir (Pajik vd., 2022: 1).

3. MÜSİNLERİN HASTALIKLAR İLE İLİŞKİSİ

Bazı müsinler özellikle de sialomüsinler yüzey antijenini maskeleyerek immün sisteminin işleyişini sekteye uğrattır (Ünüböl & Uysal, 2010: 107) hatta müsin eksprese eden kanserli hücreler naturel killer ve sitotoksik T hücrelerinin etkisine karşı oldukça dirençlidir (Koçer vd., 2000: 145).

Membran bağımlı müsinler genellikle artan tümör olgularıyla ilişkilidir. Bunlar arasından Muc1 ve 4'ün tümörün proliferasyonunu ve metastazını teşvik eden onkomüsinler olduğunu ortaya koyan çalışmalar da mevcuttur (Jonckheere vd., 2020: 2). Muc1'in çoğu kanser tablosunda (akciğer, meme, mide, pankreas, prostat,özefagus gibi) kuvvetli şekilde eksprese olduğu bilinmektedir (Koçer vd., 2000: 145).

Muc 5 ve 6, mide müsinleridirler ve normal şartlarda kolon da mevcut olmamalarına rağmen adenokarsinom tablosu şekillenmiş hastalarda yoğun ekspresyon gösterirler (Koçer vd., 2000: 145).

Kanser tablolarında aşağı regüle olan müsin genlerinden biri Muc 14'tür. Örneğin bu davranışı meme kanserinde kötü prognozu ortaya koymaktadır. Bunun haricinde mide kanseri, renal hücreli karsinom gibi pek çok kanser tablosunda sağlam bir marker olduğu ortaya konmuştur (Wang, Jin & Chen, 2021: 2).

Muc 15 de aşağı regülasyon gösteren müsin genlerinden biridir. Rahim ağzı kanseri ilgili yapılan çalışmalarda Muc15'in aşırı ekspresyonu halinde anormal hücre büyümesini baskıladığı ayrıca göç ve istila yeteneklerini de bozduğu bildirilmiştir (Zhang, 2021).

Muc 16 bölümünde bazı tümör olgularında metastazik mekanizmaya eşlik

ettiğini belirtmiştik. Hücre yüzeyinden ayrılarak dolaşıma katılır bu nedenle kanserli hastaların serum düzeyinde yüksek olarak bulunur. Dolaşıma katılması anti-Muc16 antijenlerinin tümör alanına ulaşmasını engellemek, dolaylı olarak kanserli oluşumları bağışıklık sistemine karşı gizlemek içindir (Aithal vd., 2018: 1).

Muc 19, malonom, meme kanseri, özefagus skuamöz hücreli karsinom gibi tablolarda yoğun ekspresyon göstermektedir. Özellikle meme kanserinde hastalığın kötü prognozu ve Muc19 ekspresyon seviyesi doğru orantılıdır (Zhou vd., 2021: 1).

Muc 20 glomerulonefrit tablosunda aşırı eksprese olmaktadır. Böbreklerin proksimal tubullerinden eksprese olduğu için bu alanda hasar varsa tam tersi durum söz konusu olur (Higuchi vd., 2004: 1968).

SONUÇ

Müsinler genel olarak -birkaç geni hariç- kanser veya tümör olgularında özellikle de metastazik özellikli olgularda hipersekresyon gösterirler. Bu durum göz önünde bulundurularak müsinlerin, bahsedilen olgularda spesifik marker olarak kullanılabilirliğini ölçmeye yönelik pek çok çalışma yapılmıştır. Bu nedenle bu alan oldukça fazla çalışılan ve literatür anlamında da geniş bir yelpazeye sahip olan bir alandır. Buna rağmen aydınlatılmamış pek çok açık nokta barındırır. Örneğin çoğu tipinin spesifik fonksiyonunun ne olduğu henüz bilinmemektedir. Veya anormal bir tablo şekillendiğinde müsinlerin, patojenlerin lehine hareket etmesinin altında yatan mekanizmalar tam olarak çözülebilmemiş değildir. Bu çalışmayla bugüne kadar yapılmış eski ve güncel çalışmaların verileri bir araya getirilerek müsinlere genel bir bakış ve sonraki çalışmalara bir rehber oluşturmak amaçlandı.

KAYNAKÇA

- Ünüböl Aypak, S., Uysal, H. (2010). Glikoproteinlerin Yapısı ve Fonksiyonları. *F. Ü. Sağ. Bil. Vet. Derg.* 24(2): 107-114.
- Bancroft, JD., Stevens, A. (1982). *Theory and Practice of Histological Techniques*. Baskı: 2. Churchill Livingstone, Edinburg-London-Melbourne and New York. 180-201.
- Pigman, W., Moschera, J., Weiss, M., Tettamanti, G. (1972). The Occurrence of Repetitive Glycopeptide Sequences in Bovine Submaxillary Glycoprotein. *Eur. J. Biochem.* 32: 148-54.
- Yakan, B. (1990). Hücre ve Dokuların Karbomhidrat İçeriğinin Histokimyasal Yapıları ve Özel Gösterilme Yöntemleri. *Atatürk Üniversitesi Tıp Bülteni.* 22(2): 293-302.
- Aydın, N., Ketani, MA., Topaloğlu, U., Çelenk, F., Bayram, B., Sağsöz, T. (2022). Histochemical Characterization of Mucins in the Cervix and Uterus of Cows during the Sexual Cycle. *Journal of International Dental and Medical Research.* 15(4): 1869-74.
- Kishioka, C., Chenk, P., Seftor, R., Lartey, P., Rubin, B. (1997). Regulation of Mucin Secretion in the Ferret Trachea. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 117: 480-6.
- Carson, DD., DeSouza, MM., Regisford, EGC. (1998). Mucin and Proteoglykan Function in Embryo İmplantation. *BioEssays.* 20(7): 577-583.
- Koçer, B., Soran, A., Cengiz, Ö. (2000). Kolorektal Karsinomlarda Müsin Gen Ekspresyonu. *Ulus Cerrahi Derg.* 16 (3): 145-155.
- Gray, CA., Taylor KM., Ramsey WS. et al. (2001). Endometrial Glands are Required for Preimplantation Conceptus Elongation and Survival. *Biol Reprod.* 64: 1608–1613.
- Johansson, MEV. (2009). The MUC2 Mucin -A Network in the Intestinal Protective Mucus. Institute of Biomedicine, Department of Medical Biochemistry and Cell Biology. Thesis. University of Gothenburg, Sweden.
- Schumacher, U., Duku, M., Katoh, M., Jorns, J., Krause, WJ. (2004). Histochemical Similarities of Mucins Produced by Brunner's Glands and Pyloric Glands: A Comparative Study. *Anat Rec.* 278: 540–550.
- Pajic, P., Shen, S., Qu, J., May, A., Knox, S., Ruhl, S., Gökçümen, Ö. (2022). A Mechanism of Gene Evolution Generating Mucin Function. *Science Advances.* 8(34): 1-14.
- Karakoç, Z. (2014). Boğa ve Koçların Abomasum Müsinlerinin Histokimyasal ve İmmunohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi. Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi. Diyarbakır.
- Gendler, SJ., Spicer, AP. (1995). Epithelial Mucin Genes. *Ann Rev Physiol.* 57: 607–634.

- Dekker, J., Rossen, JW., Büller, HA., Einerhand, AWC. (2002). The MUC Family: An Obituary. *Trends Biochem Sci.* 27: 126–131.
- Porchet, N., Buisine, MP., Desseyn, JL. et. al. (1999). MUC Genes: A Superfamily of Genes Towards a Functional Classification of Human Apomucins. *J Soc Biol.* 193: 85–99.
- Jonckheere, N., Auwercx, J., Bachir, EH. Et. all. (2020), Unsupervised Hierarchical Clustering of Pancreatic Adenocarcinoma Dataset from TCGA Defines a Mucin Expression Profile that Impacts Overall Survival. *Cancers.* 12(11): 2-17.
- Putten, JPM., Strijbis, K. (2016). Transmembrane Mucins: Signaling Receptors at the Intersection of Inflammation and Cancer. *J Innate Immun.* 9: 281-299.
- Karakoç, Z., Topaloğlu, U., Ketani, MA. (2020). Composition of Abomasal Mucins in Hair Goats. *Biotechnic & Histochemistry.* 96(5). 384-93.
- Moehle, C., Ackermann, N., Langmann, T., Aslanidis, C., Kel, A., Kel-Margoulis, O., Schmitz-Madry, A., Zahn, A., Stremmel, W., Schmitz, G. (2006). Aberrant Intestinal Expression and Allelic Variants of Mucin Genes Associated with Inflammatory Bowel Disease. *J. Mol. Med.* 84:1055-1066.
- Gum, JR., Hick, JW., Kim, YS. (1997). Identification and Characterization of the Muc 2 Gene 5-Flanking Region: Promoter Activity in Cultured Cells. *Biochem J.* 325: 259-267.
- Linden, SK., Florin, TH., McGuckin, MA. (2008). Mucin Dynamics in Intestinal Bacterial Infection. *PLoS. ONE.* 3:e3952.
- Malmberg, EK., Pelaseyed, T., Petersson, AC., Seidler, UE., De Jonge, H., Riordan, JR., Hansson, GC. (2008). The C-terminus of the Transmembrane Mucin MUC17 Binds to the Scaffold Protein PDZK1 that Stably Localizes it to the Enterocyte Apical Membrane in the Small Intestine. *Biochem. J.* 410:283-289
- Willem, BJ., Klinken, V., Dekker, J., Büller, HA. (1997). Biosynthesis of Mucins (MUC 2-6) along the Longitudinal Axis the Human Gastrointestinal Tract. *Am J Physiol.* 273: 296-302.
- Ciccarelli, FD., Doerks, T., Bork, P. (2002). AMOP, a Protein Module Alternatively Spliced in Cancer Cells. *TRENDS in Biochemical Sciences.* 27(3): 113-115.
- Widdicombe, JH., Wine, JJ. (2015). Airway Gland Structure and Function. *Physiol Rev.* 95: 1241-1319.
- Roy, MG., Livraghi-Butrico, A., Fletcher, AA., et. all. (2014). Muc5b is Required for Airway Defence. *Nature* 505: 412– 416.
- Zhang, J. (2007). Characterization of MUC1 Complexes in Human Oral Epithelial Cells. Department of Periodontology and Oral Biology PhD Thesis. ABD.
- Cha, HJ., Song, KS. (2018). Effect of MUC8 on Airway Inflammation: A Friend or a Foe? *J. Clin. Med.* 7(2): 2-5.

- Hendrix, E., Hewetson, A., Mansharamani, M., Chilton, B.S. (2001). Oviductin (Muc9) is Expressed in Rabbit Endocervix. *Endo.* 142(5): 2151-2154.
- Peluso, G., Tian, E., Abusleme, L., Munemasa, T., Mukaibo, T., Ten Hagen, K.G. (2020). Loss of the Disease-Associated Glycosyltransferase Galnt3 Alters Muc10 Glycosylation and the Composition of the Oral Microbiome. *J. Biol. Chem.* 295(5): 1411-1425.
- Leiper, K., Rhodes, J.M., Campbell, B.J. (2000). Two Novel Mucin Genes Muc11 and Muc12 are Expressed Normally in Ulcerative Colitis. *Gastroenterology.* 118: 4 part 2.
- Pham, E., Friedrich, M., Aeffner, F., et. all. (2021). Preclinical Assessment of a MUC12-Targeted BiTE (Bispecific T-cell Engager) Molecule. *Mol Cancer Ther.* 20(10): 1977-1987.
- Iranmanesh, H., Majd, A., Mojarad, E.N., Zali, M.R., Hashemi, M. (2021). Investigating Association between Membrane-Bound Mucin (MUC12) Expression Level and Clinicopathological Characterization of Colorectal Cancer. *Archives of Advances in Biosciences.* 12(1): 31-36.
- Williams, S.J., Wreschner, D.H., Tran, M., Eyre, H.J., Sutherland, G.R., McGuckin, M.A. (2001). MUC13, a Novel Human Cell Surface Mucin Expressed by Epithelial and Hemopoietic Cells. *Glycobiology and Extracellular Matrices.* 276(21). 18327-18336.
- Yue, Y., Hui, K., Wu, M., et. all. (2020). MUC15 Inhibits Cancer Metastasis Via PI3K/AKT Signaling in Renal Cell Carcinoma. *Cell Death and Disease.* 11(336): 2-10.
- Aithal, A., Rauth, S., Kshirsagar, P., et. all. (2018). MUC16 as a Novel Target for Cancer Therapy. *Expert Opinion on Therapeutic Targets.* 11(336): 1-38.
- Zhou, L., Huang, L., Xu, Q., et. all. (2021). Association of MUC19 Mutation With Clinical Benefits of Anti-PD-1 Inhibitors in Non-small Cell Lung Cancer. *Frontiers in Oncology.* 11: 1-12.
- Higuchi, T., Orita, T., Nakanishi, S., et. all. (2004). Molecular Cloning, Genomic Structure, and Expression Analysis of MUC20, a Novel Mucin Protein, Up-regulated in Injured Kidney. *Genes: Structure and Regulation.* 279(3): 1968-1979.
- Itoh, Y., Kamata-Sakurai, M., Denda-Nagai, K., et. all. (2008). Identification and Expression of Human Epiglycanin/MUC21: a Novel Transmembrane Mucin. *Glycobiology.* 18(1): 74-83.
- Wang, S., Jin, J., Chen, J., Lou, W. (2021). MUC14-Related ncRNA-mRNA Network in Breast Cancer. *Genes.* 12(11): 2-19.

7. BÖLÜM

HEPATOSSELÜLER KARSİNOMA (HCC): NEDEN OLAN GENETİK VE ÇEVRESEL ETKENLER

Doç. Dr. Ersin AKGÖLLÜ

*Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Patnos
Meslek Yüksekokulu Eczacılık Bölümü*

eakgollu@agri.edu.tr

ORCID: 0000-0003-3636-401X

GİRİŞ

Hepatoselüler karsinom (HCC), karaciğerin primer karsinomlarının yaklaşık %80'ini ve kansere bağlı ölümlerin dördüncü en yaygın nedeni olan dünyanın önde gelen kanserlerinden biridir (P. S. Harris et al., 2019). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2020'de dünya çapında 905500'den fazla yeni HCC vakası tahmin etti ve gelecek öngörülerine göre 2030'da toplam 1400000 yeni vaka ve 2040 yılına kadar 1000000 ölümlerle %58'lik bir artış olacağını bildirmiştir (Wild, Stewart, & Wild, 2014). HCC gelişimi için etiyolojik faktörler şunlardır: (1) Hepatit B virüsü (HBV) ve hepatit C virüsü (HCV) enfeksiyonlarının tek başlarına veya hepatit delta virüsü ile birlikte koenfeksiyon olarak görülmesi; (2) Alkol bağımlılığı ve sigara içme gibi yaşam tarzı risk faktörleri ve davranışları; (3) Çevresel faktörlerden diyet toksinlerine (örn. aflatoksinler veya aristoloşik asit) maruziyet; (4) Obezite, tip 2 diyabet, alkole bağlı olmayan karaciğer steatohepatiti/alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı gibi altta yatan hastalıklar; ve (5) Genetik bazı tek nükleotid polimorfizmlerinin, kronik karaciğer hastalığına yatkınlıktan karaciğer sirozuna veya malign dönüşüme ve karaciğer tümörünün ilerlemesine kadar farklı aşamalarda

HCC riski ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Bidkhorı et al., 2018; Nahon & Zucman-Rossi, 2012). Örneğın, tek bir gendeki tek nükleotid polimorfizmleri (MDM2 Promoter SNP309, MDM2 G-309T, rs2279744) daha yüksek kronik hepatit C'ye bağılı HCC gelişme riski ile ilişkilendirilmiştir (Dharel et al., 2006). Farklı ülkelerdeki HCC insidansı, yukarıda belirtilen farklı risk faktörleri göz önünde alındığında değişir. Doğu Asya ülkeleri ve çoğu Afrika ülkesinde HCC insidansı çoğunlukla aflatoksin maruziyeti ve HBV enfeksiyonuna bağılyken Kuzey Afrika ülkelerinde HCV enfeksiyonuna bağılıdır (J. W. Park et al., 2015). Özellikle Çin, Vietnam ve Güneydoğu Asya'da uygulanan geleneksel Çin bitkisel ilaçlarında, aristoloşik asit içeren bitkiler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu alanda, yeni nesil dizi analiz çalışmaları, HCC'lerin bir kısmının, aristoloşik asit maruziyetinin neden olduğu yüksek oranda mutasyonları barındırdığının altını çizdi (Arlt, Stiborova, & Schmeiser, 2002; Ng et al., 2017). Batı ülkelerine gelindiğinde, HCC insidansı genellikle HCV enfeksiyonu, beslenme alışkanlıkları ve metabolik hastalıklar olan alkole bağılı olmayan karaciğer steatohepatiti ve alkole bağılı olmayan yağlı karaciğer hastalığı gibi hastalıklarla ilişkilidir. Bu bölgede metabolik sendrom insidansındaki artışa karşı HBV/HCV enfeksiyonlarına bağılı HCC insidansının düşük olması, HBV aşısının ve HCV'ye karşı antiviral tedavilerin kullanılması düşünülerek açıklanabilir (Baecker, Liu, La Vecchia, & Zhang, 2018). Yukarıda belirtilen tüm bu risk faktörleri, HCC'ye yol açan genomik değişikliklerin birikmesine neden olan kronik karaciğer hastalığına (siroz veya kronik karaciğer iltihaplanması) yol açar. Genel olarak HCC, önceden var olan kronik hepatitin ilerlemesi sırasında ortaya çıkar ve hastaların büyük çoğunluğunda (%80) HCC siroz ortamında gelişir (Zucman-Rossi, Villanueva, Nault, & Llovet, 2015). HCC gelişimi, sirozdaki rejeneratif nodüller, düşük dereceli displastik nodüller ve yüksek dereceli displastik nodüllerden erken ve ilerlemiş HCC'ye kadar spesifik bir lezyon dizisi ile karakterize edilen bir süreçtir (de Biase et al., 2020). HCC tümör oluşumunu yönlendiren moleküler mekanizmalar son derece karmaşıktır. Genetik değişimin altında yatan bu çok adımlı süreci anlamak, önlemek, teşhis koymak, prognostik ve terapötik amaçlar için gereklidir. Gelecek bakış açısı ile bakıldığında, HCC tümörjenezinde yer alan moleküler mekanizmaların daha iyi bilinmesi, HCC'nin doğru bir şekilde sınıflandırılmasına, hasta sonuçlarının iyileştirilmesine ve yeni terapötik hedefler geliştirilmesine yardımcı olacaktır. Next-generation sequencing (NGS) teknolojile-

rinin ortaya çıkışı, genetik değişimin ve HCC'nin başlaması ve ilerlemesinde yer alan farklı yolların kapsamlı bir şekilde incelenmesine yardımcı olabilir. Aslında, NGS çoklu gen panellerinin geliştirilmesi, genomik durumun geniş bir görünümünü veren çoklu belirteçlerin paralel analizine izin verir (de Biase et al., 2020; Malvi et al., 2020). Bugüne kadar, bu moleküler zemini, diğer katı tümörlerde terapötik karar verme için çok önemlidir. Kanser Genom Atlası Araştırma Ağı, toplam 559 HCC vakasını araştırmıştır. Bu çalışma, TERT, TP53 ve CTNNB1'in HCC'lerde en sık varyasyona (değişikliğe) uğrayan genler olduğunu bulmuştur; HCC'lerin %77'si bu üç genden en az birinde bir mutasyon geliştirmiştir (Ally et al., 2017). HCC moleküler varyasyonları ve etiyolojik ajanlar arasındaki korelasyon verileri Tablo 1'de gösterilmektedir.

1. HCC'DE SOMATİK MUTASYONLAR

1.1. Telomeraz ters transkriptaz (TERT) geni

Genomik replikasyon döngüleri sırasında, kromozomların lineer organizasyonu, RNA primer bağlanma bölgesinin yeniden üretilmemesi nedeniyle 5'-terminalin kısalması sorununu beraberinde getirir. Aslında bu kısalma, telomeraz ters transkriptaz (TERT geni tarafından kodlanan) ve RNA şablonundan (TERC geni tarafından kodlanan) oluşan telomeraz sayesinde gerçekleşmez. Telomeraz kompleksi, telomerlerin üzerine nükleotitler ekleyerek bunların kısalmasını engeller. Telomerler, telomerlerin bulunduğu kromozomun ucunu korumak için Shelterin olarak bilinen bir protein kompleksi ile kaplanmış kısa tandem DNA tekrarlarıdır (TTAGGG). Telomer sentezi, kök hücrelerde aktive edilen ancak farklılaşma süreci sırasında epigenetik susturma nedeniyle çoğu somatik hücrede devre dışı bırakılan kontrollü bir süreçtir. Olgun hepatositlerde telomeraz eksprese edilmez (Heidenreich & Kumar, 2017). Telomerlerin kısalması, kromozomları hasara maruz bırakarak hücre yaşlanmaya neden olur ve kansere yol açan bir dizi olaydan sorumlu olduğu düşünülmektedir (Mason & Perdignes, 2013). Fakat, telomeraz enzim kompleksinin yeniden aktivitesine yol açan birkaç kanserde (örneğin, melanomlar, gliomalar, az farklılaşmış mesane kanseri, anaplastik tiroid karsinomları, bazal hücre, skuamöz hücreli karsinomlar) TERT gen ekspresyonunun yeniden aktivasyonu

gözlemlenmiştir (Heidenreich & Kumar, 2017). Bu olay, hücre yaşlanmayı önler ve kanser hücrelerinin malign dönüşümünden ziyade neoplazma hücrelerine ilerlemesinde çok önemli bir özellik olan sürekli çoğalma ve hücre ölümsüzlüğü kazanmasına yol açar (Colebatch, Dobrovic, & Cooper, 2019). Bunun nedeni sıklıkla gen promotör bölgesindeki değişikliklerdir, özellikle chr5:1295228 (-124 veya C228T) veya chr5:1295250 (-146 veya C250T)'de C>T tek nükleotid değişimleridir. C228T ve C250T TERT mutasyonları, ayrı ayrı, yeni bir Twenty-sis transkripsiyon faktörü bağlama bölgesi olarak işlev görür ve TERT geninin aşırı ekspresyonuna neden olan özdeş bir 11-baz dizisi oluşturur (Colebatch et al., 2019).

TERT ve HCC: Telomer uzunluğu ve telomer ekspresyonu, HCC'nin patogenezinde anahtar rol oynar. Birkaç çalışma, karaciğer hastalığının etiyo-lojisinden (örneğin, aşırı alkol kullanımı veya viral hepatitler gibi) bağımsız olarak, sirotik dokuda telomer kısalmasının olduğunu bulmuşlar ve bu olayın karaciğer hücre yaşlanması ve kronik hepatitin ayırt edici özelliği olabileceğini bildirmişlerdir (Kitada, Seki, Kawakita, Kuroki, & Monna, 1995). Sirotik dokunun aksine, HCC'nin %44-59'unda TERT geninin reaktivasyonu gözlenir (Quaas et al., 2014). Sirotik dokuda bulunan hücre yaşlanmayı takiben TERT reaktivasyonu, sirozda HCC'nin gelişimini ve ilerlemesini açıklayabilecek mekanizmalardan biridir. Özellikle, gen değişikliklerinin birikmesi ile yaşlanma neoplastik dönüşümü indükleyebilirken, bu duruma müteakip telomeraz aktivasyonu neoplastik bir ilerlemeye yol açabilir. TERT'nin yeniden aktivasyonuna HBV enfeksiyonu da neden olabilir. HBV, kendi genomunu konağın genomuna entegre etme kapasitesine sahiptir ve HBV genomu TERT geninin promotörünü entegre olarak TERT geninin aşırı ekspresyonuna yol açar dolayısıyla HBV ile ilişkili HCC gelişmesine %38,5 oranında katkıda bulunur (Jang et al., 2021; Schulze, Nault, & Villanueva, 2016). HCC'deki TERT mutasyonları istatistiksel olarak 65 yaş üstüne sahip olma ($P = 0.018$), HBV'den daha çok HCV enfeksiyonu ($P = 0.048$) ve tümör içi morfolojik heterojenite olması ($P = 0.0001$) ile ilişkilendirilmiştir (H. Huang et al., 1999; Kwa et al., 2020). Kwa ve ark. (2020) tarafından 97 HCC üzerinde yapılan bir çalışmada, tümör bölgelerindeki histolojik paternler erken, iyi, orta ve kötü olmak üzere dört grupta sınıflandırılmıştır. Özellikle, TERT mutasyonlu HCC'deki morfolojik yapı ile ilgili olarak, yalnızca tek bir baskın model gösteren TERT vahşi tip (mutasyonsuz) HCC'lerin aksine iki veya daha fazla

histolojik model gözlemlenildi (Kwa et al., 2020). Alkol tüketimi ile ilgili olarak Schulze ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada cerrahi olarak rezekte edilmiş 243 HCC hastasının %60'ında TERT gen promotöründe bir mutasyon olduğunu bildirmişlerdir (Schulze et al., 2016). Diğer çalışmalarda Beta-katenin proteininin sentezlendiği CTNNB1 genindeki mutasyonlar ile TERT arasındaki ilişki gösterilmiştir (Nault et al., 2013) Bu korelasyon ilk kez, β -katenin'in TERT promotörünü bağlandığı ve TERT gen ekspresyonunun regülasyonunu değiştirdiği belirtilmiştir (Hoffmeyer et al., 2012). Ayrıca, HCC'de telomer uzunluğu üzerine yapılan bir çalışma, telomer uzamasının genel sağkalımı azalttığı için kötü bir prognostik faktör olduğunu gösterdi ($P = 0.044$). Ek olarak, yüksek telomeraz aktivitesine sahip olanların kötü prognoza sahip olduğu gösterilmiştir ($P = 0.009$) (Oh et al., 2008).

1.2. Beta-katenin geni: CTNNB1

CTNNB1 geni, birkaç hücre işlevi yerine getiren bir protein olan β -katenin'i kodlar. Kadherin protein kompleksi ile etkileşime girdiğinde, β -katenin, hücre iskeletinin ve hücre içi adezyonların stabilizasyonu için önemlidir, fakat aynı zamanda kanonik Wnt/ β -katenin yolunda bir transkripsiyon faktörü olarak da rol oynar. Bu yol, embriyonik gelişim, hücre homeostaz ve çeşitli hastalıklarda rol oynar. β -katenin'in sitoplazmik konsantrasyonu, ubiquitinasyon ve proteazomal degradasyonu yoluyla sıkı bir şekilde kontrol edilir. Bu bozunma mekanizması için gerekli olan fosforilasyon, glikojen sentaz kinaz 3 alfa ve beta tarafından, aksin ve protein adenomatöz polipozis koli (APC) aracılığıyla gerçekleştirilir (Liu, Xing, Hinds, Zheng, & Xu, 2006; Xing, Clements, Kimelman, & Xu, 2003). Sitoplazmik zar, Wnt molekülleri için kıvrımlı olarak adlandırılan reseptörler vardır. Ligand-reseptör kompleksi, çeşitli proteinlerin aktivasyonuna yol açan bir dizi sitoplazmik reaksiyonu tetikler. Bu protein, aksin ile glikojen sentaz kinaz 3 arasındaki bağı önleyerek aksini bağlar (Fiedler, Mendoza-Topaz, Rutherford, Mieszczynek, & Bienz, 2011). Bu mekanizma, β -katenin'in proteazomal degradasyonunu inhibe eder. CTNNB1'in kopyalanmaya devam ettiği göz önüne alındığında, β -katenin sitoplazmik konsantrasyonu artar. Tüm β -katenin sitoplazmik bağlanma bölgeleri doygun hale geldiğinde, β -katenin proteini çekirdeğe yer değiştirir. Burada β -katenin birçok transkripsiyonel faktörle, özellikle c-Myc, CyclinD-1 ve Jun

gibi hedef genlerin transkripsiyonunu desteklemek için T-hücre faktörü/lenfoit artırıcı faktörle etkileşime girer. Bu gen hedeflerinin çoğu, onkojenik mekanizmaların aktivasyonuna yol açan onkoproteinleri kodlar (örn., kontrolsüz büyüme veya apoptozdan kaçış) (Nishida & Goel, 2011). Bu nedenle β -katenin, birkaç kanserin karsinogenezinde ve tümör ilerlemesinde yer alabilen bir moleküldür, bunlar HCC, akciğer kanseri, beyin ve beyincik kanseri, meme kanseri, kolon kanseri, lösemi ve diğerleridir (Khrantsov et al., 2010). CTNNB1 geninde bulunan aktive edici mutasyonlar genellikle, proteinin APC/AXIN1/glikojen sentaz kinaz 3B kompleksi için bir alan görevi gören kısmını kodlayan sıcak nokta bölgelerindeki nükleotid değişimleri veya çerçeve içi delesyonlardır. Böylece, β -katenin proteozom tarafından parçalanmaz ve daha sonra onkogenlerin transkripsiyonunu kontrolsüz bir şekilde aktive ederek karsinogenezin gelişimine neden olur (Coste et al., 1998).

CTNNB1 ve HCC: HCC'lerde CTNNB1 mutasyonları, %20-%40 sıklıkta en çok karşılaşılan genetik değişiklikler arasındadır (Schulze et al., 2016). Tedavi ile ilgili olarak, CTNNB1 mutasyonları, immün kontrol noktası inhibitörlerine (anti-PD-1/PD-L1 inhibitörleri ve anti-CTLA4) karşı direnci indükler (Pinyol, Sia, & Llovet, 2019). Diğer bir önemli husus HCA ile ilgilidir. Literatüre göre, Hepatoselüler adenomu (HCA) olan hastaların %5-10'u malign transformasyona tabidir, ancak en son WHO yönergeleri, CTNNB1 mutasyonlu HCA'ları, HCC gelişimine yol açabilecek daha yüksek malign transformasyon riski ile spesifik bir alt tip olarak kabul etmiştir. HCA'da CTNNB1 mutasyonları %11-%43 olarak tanımlanır (Shen et al., 2019). CTNNB1 mutasyonları, Wnt/ β -katenin yolu ile ilgili olarak HCC'lerde bulunan tek değişiklik değildir. Aslında, HCC'lerde Axin ve APC genlerindeki mutasyonlar sırasıyla %6-%15 ve %2-%4 oranında saptanmıştır (Guichard et al., 2012). CTNNB1 mutasyonuna sahip HCC'ler istatistiksel olarak şunlarla ilişkilidir: (1) HCV ile ilişkili 22 HCC hastalarının %41'inde β -katenin mutasyonu ile Wnt sinyal yolunun aktivasyonu arasında bir ilişki bulunmuştur (H. Huang et al., 1999). (2) Alkol tüketimi, yapılan bir çalışmada (Schulze et al., 2015) cerrahi olarak rezekte edilmiş 243 HCC'yi hastasının alkolle ilişkili olanlarının %37'si CTNNB1 geninde bir mutasyon barındırıyordu; (3) CTNNB1 ve TERT arasındaki korelasyonlar "TERT ve HCC" paragrafında açıklanmıştır; ve (4) CTNNB1 ile ARID1A gen (AT-rich interactive domain-containing protein 1A, genlerin ekspresyonunu düzenleyen protein) mutasyonları ($P = 0.05$)

ve NFE2L2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2, antioksidan proteinlerin sentezinden sorumlu transkripsiyon faktörü) mutasyonları ile ilişkileri ($P = 0.015$) 125 HCC'li hasta ile yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (Guichard et al., 2012).

1.3. TP53 geni

TP53 geni, adını moleküler kütesine (53 kDa) borçlu olan p53 proteinini kodlar. p53, genomik mutasyonları önleyerek hücre döngüsünü, apoptozu ve genomik stabiliteyi düzenleyen bir onkosüpresör olduğu için “genomun koruyucusu” olarak adlandırılır. p53 yolağı, diğer sinyal iletim yollarıyla (örn., retinoblastoma yolağı, Wnt- β -katenin, siklin-cdk) etkileşime girdiği için hücre sel mekanizmalarda çok önemlidir. Pek çok pozitif ve negatif oto-düzenleyici geribildirim mekanizması, p53 fonksiyonları üzerinde etkilidir (S. L. Harris & Levine, 2005). p53'ün aktivasyonu, genetik materyalin uygun bir şekilde kopyalanmasını riske sokan hücreye hem içsel hem de dışsal birçok farklı stres etkenine (örn. gama veya UV radyasyonu, oksidatif stres, ozmotik şok) yanıt olarak gerçekleşir. p53 aktivasyonu için anahtar olay, N-terminal bölgesinin protein kinazlar tarafından fosforilasyonudur. Bu olay, p53 proteininin yarı ömrünün artması ile birlikte etkinliğinin artmasına neden olur ve bir transkripsiyon faktörü olarak stresli hücrelerde p53'ün birikmesine yol açar. Bu aktivasyondan sonra p53, hücre döngüsünü bloke eden bir program başlatır, hücreyi yaşlanmaya ve ardından apoptoza yönlendirir (Jin & Levine, 2001). Normal fizyolojik şartlardaki hücrelerde, p53'ün sitoplazmik seviyeleri, bozunması yoluyla kontrol altında tutulur. Mdm2 proteini, p53'ü bağlar, onu çekirdekten sitozole taşır ve bir ubiquitin ligaz görevi görür, böylece ubiquitin p53'e bağlanarak proteazom degradasyonuna yol açar. TP53 geni mutasyonlar/tek nükleotid değişimleri ile üç boyutlu yapısı değiştirilirse, p53 proteini düzgün bir şekilde işlev göremez ve tümör oluşumuna ve tümörün ilerlemesine neden olur. TP53, insan kanserlerinde en sık mutasyona uğrayan gen olarak tanımlandı. TP53 mutasyonları, insan kanserlerinde en sık görülen ve en önemli olan mutasyonlardır, ancak mutasyonların sıklığı kanser türüne bağlı olarak oldukça değişkendir: yumurtalık kanserinde %90, akciğerde %50-80'e kadar görülürken serviks kanserde %5'den daha az görülür (Soussi, 2011). Li Fraumeni sendromundan etkilenen bireyler, mutasyona uğramış bir TP53

aleli taşırlar ve bu sendrom, çeşitli kanser türlerinin gelişimine zemin hazırlar (Gargallo et al., 2020).

TP53 ve HCC: HCC'lerin yaklaşık %15-40'ı, ilerlemiş tümörlerde daha yüksek bir sıklıkta TP53 geninde mutasyonlar taşır (Lombardo et al., 2020). Şaşırtıcı bir şekilde, spesifik bir TP53 mutasyonu, *Aspergillus* mantarları tarafından üretilen bir mikotoksin olan aflatoksin B1'in diyet alımıyla önemli ölçüde ilişkilidir. Aflatoksin B1'e maruz kalma, TP53 kodonu 249'da G → T transversiyonunu indükleyerek (c.747G>T) nükleotit değişimine dolayısıyla arjininin yerine serin amino asit (p.R249S) yer değişimine yol açar. Bu mutasyon daha sonra HCC'de aflatoksin B1'e maruz kalmanın mutasyonel bir imzası olarak düşünülebilir. Mutasyona uğramış TP53'e sahip HCC'ler istatistiksel olarak şunlarla ilişkilidir: (1) HBV enfeksiyonu ve aflatoksin B1 maruziyeti (Gouas, Shi, & Hainaut, 2009; Lunn et al., 1997). Bu çalışmada 110 HCC üzerinde popülasyona dayalı bir çalışma yürütmüştür. HBV enfeksiyonu (RR=17.0), aflatoksin B1 maruziyeti (RR=17.4) ve iki risk ajanı birlikte (RR=67.7) için elde ettikleri bağıl risk (RR) oranıyla bu ajanlar için HCC gelişimi arasındaki korelasyonu doğruladı. Aflatoksin B1'e maruz kalma, TP53 geninde p.R249S yer değişimini indükler ve HBV enfeksiyonu viral genomun konak genomuna entegrasyonuna neden olarak, TP53 gibi hücresel düzenleme için çok önemli olan genlerdeki mutasyonları teşvik eder. Bu nedenlerle HBV enfeksiyonu ve aflatoksin B1, HCC'de yüksek oranda mutajenezi teşvik eder (Gouas et al., 2009; Lunn et al., 1997).

1.4. Janus kinaz 1 geni (JAK)

JAK/STAT sinyal yolları, sitokinle indüklenen janus kinaz/sinyal transdüsörleri ve transkripsiyon aktivatörleri (JAK/STAT) yolağı aktivasyonu yoluyla bir HCC alt kümesinde karsinogenez promotörleri olarak tanımlanmıştır (He & Karin, 2011; Wilson et al., 2013). Tek iplikli konformasyonel polimorfizmleri (SSCP'ler) ve doğrudan dizilemeyi kullanan önceki bir çalışma, HCC'de düşük frekansta (1/84, %1.2) Janus kinaz 1 (JAK1) mutasyonları bildirmiştir (W. PaRK & Nam, 2009). Son zamanlarda, kapsamlı bir tam genom analizi, JAK1 mutasyonlarının HCC'lerin %9.1'inde ortaya çıktığını ve JAK/STAT yolağının HCC'lerin %45.5'inde değiştiğini ortaya çıkardı (Kan et al., 2013). Bu bulgular, JAK/STAT yolağının, HCC'deki ana onkogenik itici güçlerden biri olarak hareket edebileceğini ve bunun HCC tedavisi için umut verici bir terapötik yaklaşım olarak kullanılma olasılığını öngörmektedir.

1.5. Ribozomal Protein S6 Kinaz Polipeptit 3 geni (RPS6KA3)

Ribozomal protein S6 kinaz polipeptit 3 (RPS6KA3), RAS/MAPK sinyal yolunun bir bileşenini, yani ribozomal S6 protein kinaz 2'yi (RSK2) kodlayan X kromozomu üzerinde bulunan bir geni kodlar. RPS6KA3'te tekrarlayan mutasyonlar, HCC'lerin %2-9'unda bulunmuştur (Guichard et al., 2012), bu da RPS6KA3'ün HCC patogenezinin yeni tanımlanmış potansiyel bir itici gücü olarak hareket edebileceğini düşündürmektedir. Spesifik olarak, RPS6KA3 az diferansiye HCC'lerde mutasyona uğrama eğilimindedir ve siroz olmadan gelişen HCC'lerde mutasyon görülmektedir (Guichard et al., 2012; Y. Zhang et al., 2014). Ek olarak, RPS6KA3 mutasyonları sıklıkla AXIN1 mutasyonları ile ilişkilendirilmiştir (Guichard et al., 2012), bu da RPS6KA3 inaktivasyonunun hepatokarsinogenezi teşvik etmek için Wnt/ β -katenin sinyali ile iş birliği yapabileceğini düşündürmektedir. Tüm bu somatik mutasyonlar ve hepatokarsinogenez ile ilişkisi tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Hepatoselüler karsinomda sık tekrarlayan somatik mutasyonları ve bunların klinik ve patolojik parametrelerle korelasyonları

Gen	Değişmiş yolak	Klinik ve patolojik ilişkisi	Referans
TERT promotör	Telomere stability	Hepatokarsinogenez	Nault ve ark.; Yang ve ark.;
TP53	Hücre döngüsü kontrolü	Hepatokarsinogenez Kötü prognoz	Oi ve ark.
CTNNB1	Wnt/ β -katenin yolağı	Hepatokarsinogenez Kötü prognoz	Park ve ark.; Vilarinho ve ark.
AXIN1	Wnt/ β -katenin yolağı	Hepatokarsinogenez ve progresyonu	Guan ve ark.
ARID1A	Kromatin yeniden şekillenmesi	HCC'nin başlaması ve ilerlemesi	Schulze ve ark.
NFE2L2	Oksidatif stres	Hepatokarsinogenez ve progresyonu	Nault JC ve ark.
JAK1	JAK1 JAK/STAT yolağı	Hepatokarsinogenez	Kan ve ark.
RPS6KA3	RAS/MAPK yolağı	Hepatokarsinogenez	Guichard ve ark.
KEAP1	Oksidatif stres	Hepatokarsinogenez ve progresyonu	Schulze ve ark.

TERT: Telomeraz ters transkriptaz; **ARID1A:** AT açısından zengin etkileşimli alan içeren protein 1A; **ARID2:** AT açısından zengin etkileşimli alan içeren protein 2; **NFE2L2/NRF2:** Eritroid kaynaklı nükleer faktör 2 benzeri 2; **KEAP1:** Kelch benzeri ECH ile ilişkili protein 1; **JAK1:** Janus kinaz 1; **RPS-6KA3:** Ribozomal protein S6 kinaz polipeptit 3.

2. HCC'DE TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİ

SNP'ler, bir bireyin kansere duyarlılığına ve ilerlemesine katkıda bulunabilen insan genetik polimorfizmlerinin en yaygın şeklidir. Biriken kanıtlar, belirli genlerdeki SNP'ler ile HCC duyarlılığı arasında bir ilişki olduğunu düşündürmektedir (Wang et al., 2016). Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (Genome-wide association study; GWAS), kanserin başlaması ve ilerlemesi ile ilişkili olabilecek daha az penetran kanser duyarlılığı alellerini tanımlamak için yeni bir yaklaşım olarak ortaya çıkmıştır. Son GWAS, HCC riskiyle ilişkili çok sayıda SNP tanımlamıştır ancak, çoğu bulgu hem çelişkili hem de tutarsız olmuştur. Örneğin, üç araştırmacı, kinesin benzeri faktör 1 B genindeki (KIF1B) bir SNP'sinin (rs17401966) Çinli bireylerde HBV ilişkili HCC riski ile ilişkili olup olmadığını araştırdı. Bir çalışma (H. Zhang et al., 2010) olduğunu buldu, ancak başka bir çalışma (Qu et al., 2016) olmadığını bulmuştur. Üçüncü bir çalışma, KIF1B'nin tek başına riskle ilişkili olmadığını, ancak KIF1B varyantı ile alkol tüketimi arasındaki gen-çevre etkileşiminin HCC riski ile ilişkili olduğunu bulmuştur (Chen et al., 2016). Bu tutarsız bulgular, ilk iki çalışmada epidemiyolojik ve çevresel risk faktörleri gibi kafa karıştırıcı değişkenlerin kontrol edilmemesine bağlanabilir. Bu nedenle, KIF1B rs17401966'nın HCC'ye genetik duyarlılık ve gen-çevre etkileşimindeki rolünü değerlendirmek için önemlidir. İlginç bir şekilde, üç çalışma KIF1B rs17401966'nın Taylandlı, Japon ve Suudi Arabistanlı hastalarda (Al-Qahtani et al., 2012; Sawai et al., 2012; Sopipong, Tangkijvanich, Payungporn, Posuwan, & Poovorawan, 2013) HBV ilişkili HCC gelişimi ile ilişkili olmadığını buldu ve diğer iki çalışma Çinli hastalarda KIF1B rs17401966'nın HBV ilişkili HCC yatkınlığına karşı koruyucu etkiler gösterdiğini belirledi (M. Huang et al., 2014; Pan, Su, Lin, & Niu, 2015). Bu tutarsızlıklar kısmen, farklı etnik kökenlerin veya çalışma popülasyonlarının farklı genetik yapıya sahip olmasından kaynaklanıyor olabilir. Başka bir örnekte, üç GWAS, MHC sınıfı - polipeptit ile ilişkili dizi A (MICA) ve DEP alanı içeren-5 (DEPDC5) genindeki SNP'nin, kronik HCV enfeksiyonları olan Japon popülasyonlarında HCC ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğunu tanımlamıştır. Bununla birlikte, diğer iki çalışma, kronik HCV enfeksiyonları olan Avrupalılarda (Kumar et al., 2011) veya kronik HBV enfeksiyonları olan Çin popülasyonlarında ne DEPDC5 rs1012068 ne de MICA rs2596542'nin HCC ile ilişkili olduğunu

bulmuştur. Bu çalışmalar arasındaki tutarsızlıklar, farklı çalışma tasarımlarından (Burza et al., 2016) veya farklı ırk/etnik gruplardaki farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir. HBV ve HCV ile ilişkili HCC için tutarsız bulgular, MICA ve DEPDC5 lokuslarındaki SNP'lerin HCC'ye duyarlılığı etkileyip etkilemediğinin ırka/etnik kökene özgü farklılıklara tabi olduğunu düşündürmektedir. Kuşkusuz, aynı değişkenlik, incelenen farklı irksal veya etnik gruplardaki tutarsız bulgulara katkıda bulunan gen-gen ve gen-çevre etkileşimleri ile açıklanabilecek diğer tüm HCC ile ilişkili SNP'ler için de geçerlidir (Moonasinghe et al., 2012).

Tablo 2. GWAS'ta Tanımlanan Hepatoselüler Karsinom Riskiyle İlişkili Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Özeti.

İlişkili Gen	SNP	HCC Etiyolojisi	P Değeri	Referans
TPTE2	rs2880301	H B V / H C V , Kore	1.74×10^{-12}	Clifford ve arkadaşları
KIF1B		HBV, Çin	1.70×10^{-18}	Zhang ve arkadaşları
GRIK1	rs455804	HBV, Çin	5.24×10^{-10}	Li ve arkadaşları
HLA-DQA1/ DRB1	rs9272015	HBV, Çin	1.13×10^{-19}	Li ve arkadaşları
MICA	rs2596542	HCV, Japonya	4.21×10^{-13}	Kumar ve arkadaşları
DEPDC5	rs1012068	HCV, Japonya	1.27×10^{-13}	Miki ve arkadaşları
FasL	rs763110	HBV/HCV, Mısır	0.003	Khalifa ve arkadaşları
STAT4	rs7574865	HBV, Çin	1.66×10^{-11}	Jiang ve arkadaşları
FOXP3	rs3761549	HBV, Çin	0.030	Chen ve arkadaşları
DDX18	rs2551677	H B V / H C V , Kore	1.41×10^{-10}	Clifford ve arkadaşları

SNP: Tek nükleotid polimorfizmi; **HCC:** Hepatoselüler karsinom; **GWAS:** Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları; **HBV:** Hepatit B virüsü; **HCV:** Hepatit C virüsü; **TPTE2:** Transmembran fosfoinositid 3-fosfataz ve tensin homolog 2; **KIF1B:** Kinesin benzeri faktör 1 B; **GRIK1:** Glutamat reseptörü, iyonotropik, kainat 1; **HLA-DQA1/DRB1:** Majör doku uygunluk kompleksi, sınıf II, DQ alfa 1, DR beta 1; **MİKA:** MHC sınıf I polipeptit ilişkili dizi A; **HLA-DQ:** Majör doku uygunluk kompleksi sınıf II antijeni; **DEPDC5:** 5 içeren DEP alanı; **DDX18:** DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) kutu polipeptit 18; **FasL:** Fas ligandı; **STAT4:** Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon 4'ün etkinleştiricisi; **FOXP3:** Çatal kutusu P3.

Mevcut sonuçlar birlikte ele alındığında, HCC için GWAS'ta tespit edilen SNP'lerle ilgili bulguların çoğunun, farklı ırk/etnik gruplar arasındaki farklılıklar, farklı çalışma tasarımları ve genetik heterojenite nedeniyle çoğaltılmasının sorunlu olabileceğini göstermektedir. GWAS şimdiye kadar HCC duyarlılığı ile ilişkili çok sayıda SNP tanımlamıştır; ancak, bu araştırmaların çoğu nispeten küçük örneklem boyutlarıyla veya yalnızca bir ırksal/etnik grubun dahil edilmesiyle sınırlıydı. Bu bulguların tutarsızlığı, kafa karıştırıcı değişkenler için kontrol eksikliği, farklı çalışma tasarımları veya çalışmalardaki farklı ırk/etnik gruplar gibi birçok faktöre bağlanabilir. GWAS'ta bulunan SNP'lerle ilgili bulgulardaki yüksek değişkenlik/tutarsızlık göz önüne alındığında, en azından bugüne kadar, HCC'nin başlamasına ve ilerlemesine ilişkin güvenilir belirteçleri belirleme aracı olarak HCC ile ilgili SNP'lerin HCC'ye duyarlılık üzerindeki etkisini aydınlatmak için daha büyük örneklem boyutları ve çoklu ırklar/etnisiteler ile daha iyi tasarlanmış araştırmalar yapılması önerilmektedir.

SONUÇ VE YORUM

Bir tümörün moleküler imzasının belirlenmesi (mutasyonları/tek nükleotid değişimleri/insersiyon/delesyon/duplikasyonları) farklı kanser türlerine sahip hastaların teşhisi, prognozu ve sağ-kalımı ile ilgili öngörücü yaklaşımda giderek artan önemli biyobelirteçlerdir. Kişiselleştirilmiş tıp çağında, HCC mutasyonlarının incelenmesi hala araştırmaya değer bir alandır. Hem literatür verilerini hem de kişisel deneyimlerimizi göz önünde bulundurarak, HCC'lerin yaklaşık %80'i, farklı biyolojik ve klinik etkileri olan TERT, TP53, CTN-NB1 arasında en az bir gende mutasyonlar barındırmaktadır. Ayrıca HCC'ye yatkınlığı belirleyen tek nükleotid polimorfizmlerinin etkisinin olduğu fakat yapılan çalışma tasarımlarının hatalı olmasından dolayı etkilerinin tam olarak aydınlatılmadığı görülmektedir. HCC'nin başlamasına ve ilerlemesine ilişkin güvenilir belirteçleri belirleme aracı olarak HCC ile ilgili SNP'lerin HCC'ye duyarlılık üzerindeki etkisini aydınlatmak için daha büyük örneklem boyutları ve çoklu ırklar/etnisiteler ile daha iyi tasarlanmış araştırmalar yapılması önerilmektedir.

Yakın gelecekte, bu genlerdeki somatik mutasyonlar ile etkisi ispatlanan SNP'lerin daha derin bir analizi kesinlikle yapılması ile HCC'nin moleküler karakterizasyonunun sağlanması bireyselleştirilmiş tıpta hasta yararına büyük fırsatlar sağlayacaktır.

KAYNAKÇA

- Al-Qahtani, A., Al-Anazi, M., Viswan, N. A., Khalaf, N., Abdo, A. A., Sanai, F. M., . . . Al-Ahdal, M. (2012). Role of single nucleotide polymorphisms of KIF1B gene in HBV-associated viral hepatitis.
- Ally, A., Balasundaram, M., Carlsen, R., Chuah, E., Clarke, A., Dhalla, N., . . . Ma, Y. (2017). Comprehensive and integrative genomic characterization of hepatocellular carcinoma. *Cell*, 169(7), 1327-1341. e1323.
- Arlt, V. M., Stiborova, M., & Schmeiser, H. H. (2002). Aristolochic acid as a probable human cancer hazard in herbal remedies: a review. *Mutagenesis*, 17(4), 265-277.

- Baecker, A., Liu, X., La Vecchia, C., & Zhang, Z.-F. (2018). Worldwide incident hepatocellular carcinoma cases attributable to major risk factors. *European journal of cancer prevention: the official journal of the European Cancer Prevention Organisation (ECP)*, 27(3), 205.
- Bidkhorji, G., Benfeitas, R., Klevstig, M., Zhang, C., Nielsen, J., Uhlen, M., . . . Mardinoglu, A. (2018). Metabolic network-based stratification of hepatocellular carcinoma reveals three distinct tumor subtypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(50), E11874-E11883.
- Burza, M. A., Motta, B. M., Mancina, R. M., Pingitore, P., Pirazzi, C., Lepore, S. M., . . . Lazzaro, V. (2016). DEPDC5 variants increase fibrosis progression in Europeans with chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*, 63(2), 418-427.
- Chen, J.-H., Wang, Y.-Y., Lv, W.-B., Gan, Y., Chang, W., Tian, N.-N., . . . Chen, S.-D. (2016). Effects of interactions between environmental factors and KIF1B genetic variants on the risk of hepatocellular carcinoma in a Chinese cohort. *World journal of gastroenterology*, 22(16), 4183.
- Colebatch, A. J., Dobrovic, A., & Cooper, W. A. (2019). TERT gene: its function and dysregulation in cancer. *Journal of clinical pathology*, 72(4), 281-284.
- Coste, A. d. L., Romagnolo, B., Billuart, P., Renard, C.-A., Buendia, M.-A., Soubrane, O., . . . Kahn, A. (1998). Somatic mutations of the β -catenin gene are frequent in mouse and human hepatocellular carcinomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(15), 8847-8851.
- de Biase, D., Acquaviva, G., Visani, M., Sanza, V., Argento, C. M., De Leo, A., . . . Tallini, G. (2020). Molecular diagnostic of solid tumor using a next generation sequencing custom-designed multi-gene panel. *Diagnostics*, 10(4), 250.
- Dharel, N., Kato, N., Muroyama, R., Moriyama, M., Shao, R.-X., Kawabe, T., & Omata, M. (2006). MDM2 promoter SNP309 is associated with the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *Clinical Cancer Research*, 12(16), 4867-4871.
- Fiedler, M., Mendoza-Topaz, C., Rutherford, T. J., Mieszczanek, J., & Bienz, M. (2011). Dishevelled interacts with the DIX domain polymerization interface of Axin to interfere with its function in down-regulating β -catenin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(5), 1937-1942.
- Gargallo, P., Yáñez, Y., Segura, V., Juan, A., Torres, B., Balaguer, J., . . . Cañete, A. (2020). Li-Fraumeni syndrome heterogeneity. *Clinical and Translational Onco-*

logy, 22(7), 978-988.

- Gouas, D., Shi, H., & Hainaut, P. (2009). The aflatoxin-induced TP53 mutation at codon 249 (R249S): biomarker of exposure, early detection and target for therapy. *Cancer letters*, 286(1), 29-37.
- Guichard, C., Amaddeo, G., Imbeaud, S., Ladeiro, Y., Pelletier, L., Maad, I. B., . . . Degos, F. (2012). Integrated analysis of somatic mutations and focal copy-number changes identifies key genes and pathways in hepatocellular carcinoma. *Nature genetics*, 44(6), 694-698.
- Harris, P. S., Hansen, R. M., Gray, M. E., Massoud, O. I., McGuire, B. M., & Shoreibah, M. G. (2019). Hepatocellular carcinoma surveillance: an evidence-based approach. *World journal of gastroenterology*, 25(13), 1550.
- Harris, S. L., & Levine, A. J. (2005). The p53 pathway: positive and negative feedback loops. *Oncogene*, 24(17), 2899-2908.
- He, G., & Karin, M. (2011). NF- κ B and STAT3—key players in liver inflammation and cancer. *Cell research*, 21(1), 159-168.
- Heidenreich, B., & Kumar, R. (2017). TERT promoter mutations in telomere biology. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 771, 15-31.
- Hoffmeyer, K., Raggioli, A., Rudloff, S., Anton, R., Hierholzer, A., Del Valle, I., . . . Kemler, R. (2012). Wnt/ β -catenin signaling regulates telomerase in stem cells and cancer cells. *Science*, 336(6088), 1549-1554.
- Huang, H., Fujii, H., Sankila, A., Mahler-Araujo, B. M., Matsuda, M., Cathomas, G., & Ohgaki, H. (1999). β -Catenin mutations are frequent in human hepatocellular carcinomas associated with hepatitis C virus infection. *The American journal of pathology*, 155(6), 1795-1801.
- Huang, M., Pan, Y., Liu, J., Qi, F., Wen, J., Xie, K., . . . Dai, J. (2014). A genetic variant at KIF1B predicts clinical outcome of HBV-related hepatocellular carcinoma in Chinese. *Cancer epidemiology*, 38(5), 608-612.
- Jang, J.-W., Kim, H.-S., Kim, J.-S., Lee, S.-K., Han, J.-W., Sung, P.-S., . . . Han, D.-J. (2021). Distinct Patterns of HBV Integration and TERT Alterations between in Tumor and Non-Tumor Tissue in Patients with Hepatocellular Carcinoma. *International journal of molecular sciences*, 22(13), 7056.
- Jin, S., & Levine, A. J. (2001). The p53 functional circuit. *Journal of cell science*, 114(23), 4139-4140.

- Kan, Z., Zheng, H., Liu, X., Li, S., Barber, T. D., Gong, Z., . . . Xu, J. (2013). Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in hepatocellular carcinoma. *Genome research*, 23(9), 1422-1433.
- Khramtsov, A. I., Khramtsova, G. F., Tretiakova, M., Huo, D., Olopade, O. I., & Goss, K. H. (2010). Wnt/ β -catenin pathway activation is enriched in basal-like breast cancers and predicts poor outcome. *The American journal of pathology*, 176(6), 2911-2920.
- Kitada, T., Seki, S., Kawakita, N., Kuroki, T., & Monna, T. (1995). Telomere shortening in chronic liver diseases. *Biochemical and biophysical research communications*, 211(1), 33-39.
- Kumar, V., Kato, N., Urabe, Y., Takahashi, A., Muroyama, R., Hosono, N., . . . Nakagawa, H. (2011). Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for HCV-induced hepatocellular carcinoma. *Nature genetics*, 43(5), 455-458.
- Kwa, W. T., Effendi, K., Yamazaki, K., Kubota, N., Hatano, M., Ueno, A., . . . Sakamoto, M. (2020). Telomerase reverse transcriptase (TERT) promoter mutation correlated with intratumoral heterogeneity in hepatocellular carcinoma. *Pathology international*, 70(9), 624-632.
- Liu, J., Xing, Y., Hinds, T. R., Zheng, J., & Xu, W. (2006). The third 20 amino acid repeat is the tightest binding site of APC for β -catenin. *Journal of molecular biology*, 360(1), 133-144.
- Lombardo, D., Saitta, C., Giosa, D., Casuscelli di Tocco, F., Musolino, C., Caminiti, G., . . . Navarra, G. (2020). Frequency of somatic mutations in TERT promoter, TP53 and CTNNB1 genes in patients with hepatocellular carcinoma from Southern Italy. *Oncology Letters*, 19(3), 2368-2374.
- Lunn, R. M., Zhang, Y.-J., Wang, L.-Y., Chen, C.-J., Lee, P.-H., Lee, C.-S., . . . Santella, R. M. (1997). P53 mutations, chronic hepatitis b virus infection, and aflatoxin exposure in hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Cancer Research*, 57(16), 3471-3477.
- Malvi, D., de Biase, D., Fittipaldi, S., Grillini, M., Visani, M., Pession, A., . . . Vasuri, F. (2020). Immunomorphology and molecular biology of mixed primary liver cancers: is Nestin a marker of intermediate-cell carcinoma? *Histopathology*, 76(2), 265-274.
- Mason, P. J., & Perdignes, N. (2013). Telomere biology and translational research. *Translational Research*, 162(6), 333-342.

- Moonesinghe, R., Ioannidis, J., Flanders, W. D., Yang, Q., Truman, B. I., & Khoury, M. J. (2012). Estimating the contribution of genetic variants to difference in incidence of disease between population groups. *European journal of human genetics*, 20(8), 831-836.
- Nahon, P., & Zucman-Rossi, J. (2012). Single nucleotide polymorphisms and risk of hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *Journal of hepatology*, 57(3), 663-674.
- Nault, J. C., Mallet, M., Pilati, C., Calderaro, J., Bioulac-Sage, P., Laurent, C., . . . Zucman-Rossi, J. (2013). High frequency of telomerase reverse-transcriptase promoter somatic mutations in hepatocellular carcinoma and preneoplastic lesions. *Nature communications*, 4(1), 1-7.
- Ng, A. W., Poon, S. L., Huang, M. N., Lim, J. Q., Boot, A., Yu, W., . . . Tan, P. (2017). Aristolochic acids and their derivatives are widely implicated in liver cancers in Taiwan and throughout Asia. *Science translational medicine*, 9(412), eaan6446.
- Nishida, N., & Goel, A. (2011). Genetic and epigenetic signatures in human hepatocellular carcinoma: a systematic review. *Current genomics*, 12(2), 130-137.
- Oh, B.-K., Kim, H., Park, Y. N., Yoo, J. E., Choi, J., Kim, K.-S., . . . Park, C. (2008). High telomerase activity and long telomeres in advanced hepatocellular carcinomas with poor prognosis. *Laboratory investigation*, 88(2), 144-152.
- Pan, H., Su, C., Lin, Y., & Niu, J. (2015). The relationship between the KIF1B (rs17401966) single nucleotide polymorphism and the genetic susceptibility to hepatocellular carcinoma. *Zhonghua yu Fang yi xue za zhi [Chinese Journal of Preventive Medicine]*, 49(5), 419-423.
- Park, J. W., Chen, M., Colombo, M., Roberts, L. R., Schwartz, M., Chen, P. J., . . . Orsini, L. S. (2015). Global patterns of hepatocellular carcinoma management from diagnosis to death: the BRIDGE Study. *Liver International*, 35(9), 2155-2166.
- PaRK, W., & Nam, S. (2009). Mutational analysis of JAK1 gene in human hepatocellular carcinoma. *Neoplasma*, 56, 2.
- Pinyol, R., Sia, D., & Llovet, J. M. (2019). Immune Exclusion-Wnt/CTNNB1 Class Predicts Resistance to Immunotherapies in HCCCTNNB1-Mutated HCC Tumors Are Resistant to Immunotherapy. *Clinical Cancer Research*, 25(7), 2021-2023.
- Qu, L. S., Jin, F., Guo, Y. M., Liu, T. T., Xue, R. Y., Huang, X. W., . . . Shen, X. Z. (2016). Nine susceptibility loci for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma identified by a pilot two-stage genome-wide association study. *Oncology Letters*, 11(1), 624-632.

- Quaas, A., Oldopp, T., Tharun, L., Klingensfeld, C., Krech, T., Sauter, G., & Grob, T. J. (2014). Frequency of TERT promoter mutations in primary tumors of the liver. *Virchows Archiv*, 465(6), 673-677.
- Sawai, H., Nishida, N., Mbarek, H., Matsuda, K., Mawatari, Y., Yamaoka, M., . . . Mochida, S. (2012). No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other East Asian populations. *BMC medical genetics*, 13(1), 1-4.
- Schulze, K., Imbeaud, S., Letouzé, E., Alexandrov, L. B., Calderaro, J., Rebouissou, S., . . . Soysouvanh, F. (2015). Exome sequencing of hepatocellular carcinomas identifies new mutational signatures and potential therapeutic targets. *Nature genetics*, 47(5), 505-511.
- Schulze, K., Nault, J.-C., & Villanueva, A. (2016). Genetic profiling of hepatocellular carcinoma using next-generation sequencing. *Journal of hepatology*, 65(5), 1031-1042.
- Shen, X.-Y., Hu, X.-G., Kim, Y.-B., Kim, M.-N., Hong, S.-Y., Kim, B.-W., & Wang, H.-J. (2019). Molecular classification of hepatocellular adenoma: A single-center experience. *Annals of Hepato-biliary-pancreatic Surgery*, 23(2), 109-114.
- Sopipong, W., Tangkijvanich, P., Payungporn, S., Posuwan, N., & Poovorawan, Y. (2013). The KIF1B (rs17401966) single nucleotide polymorphism is not associated with the development of HBV-related hepatocellular carcinoma in Thai patients. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(5), 2865-2869.
- Soussi, T. (2011). TP53 mutations in human cancer: database reassessment and prospects for the next decade. *Advances in cancer research*, 110, 107-139.
- Wang, B., Yeh, C.-B., Lein, M.-Y., Su, C.-M., Yang, S.-F., Liu, Y.-F., & Tang, C.-H. (2016). Effects of HMGB1 polymorphisms on the susceptibility and progression of hepatocellular carcinoma. *International journal of medical sciences*, 13(4), 304.
- Wild, C. P., Stewart, B. W., & Wild, C. (2014). *World cancer report 2014*: World Health Organization Geneva, Switzerland.
- Wilson, G. S., Tian, A., Hebbard, L., Duan, W., George, J., Li, X., & Qiao, L. (2013). Tumoricidal effects of the JAK inhibitor Ruxolitinib (INC424) on hepatocellular carcinoma in vitro. *Cancer letters*, 341(2), 224-230.
- Xing, Y., Clements, W. K., Kimelman, D., & Xu, W. (2003). Crystal structure of a β -catenin/axin complex suggests a mechanism for the β -catenin destruction complex. *Genes & development*, 17(22), 2753-2764.

- Zhang, H., Zhai, Y., Hu, Z., Wu, C., Qian, J., Jia, W., . . . Yue, W. (2010). Genome-wide association study identifies 1p36. 22 as a new susceptibility locus for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B virus carriers. *Nature genetics*, *42*(9), 755-758.
- Zhang, Y., Qiu, Z., Wei, L., Tang, R., Lian, B., Zhao, Y., . . . Xie, L. (2014). Integrated analysis of mutation data from various sources identifies key genes and signaling pathways in hepatocellular carcinoma. *PloS one*, *9*(7), e100854.
- Zucman-Rossi, J., Villanueva, A., Nault, J.-C., & Llovet, J. M. (2015). Genetic landscape and biomarkers of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, *149*(5), 1226-1239. e1224.