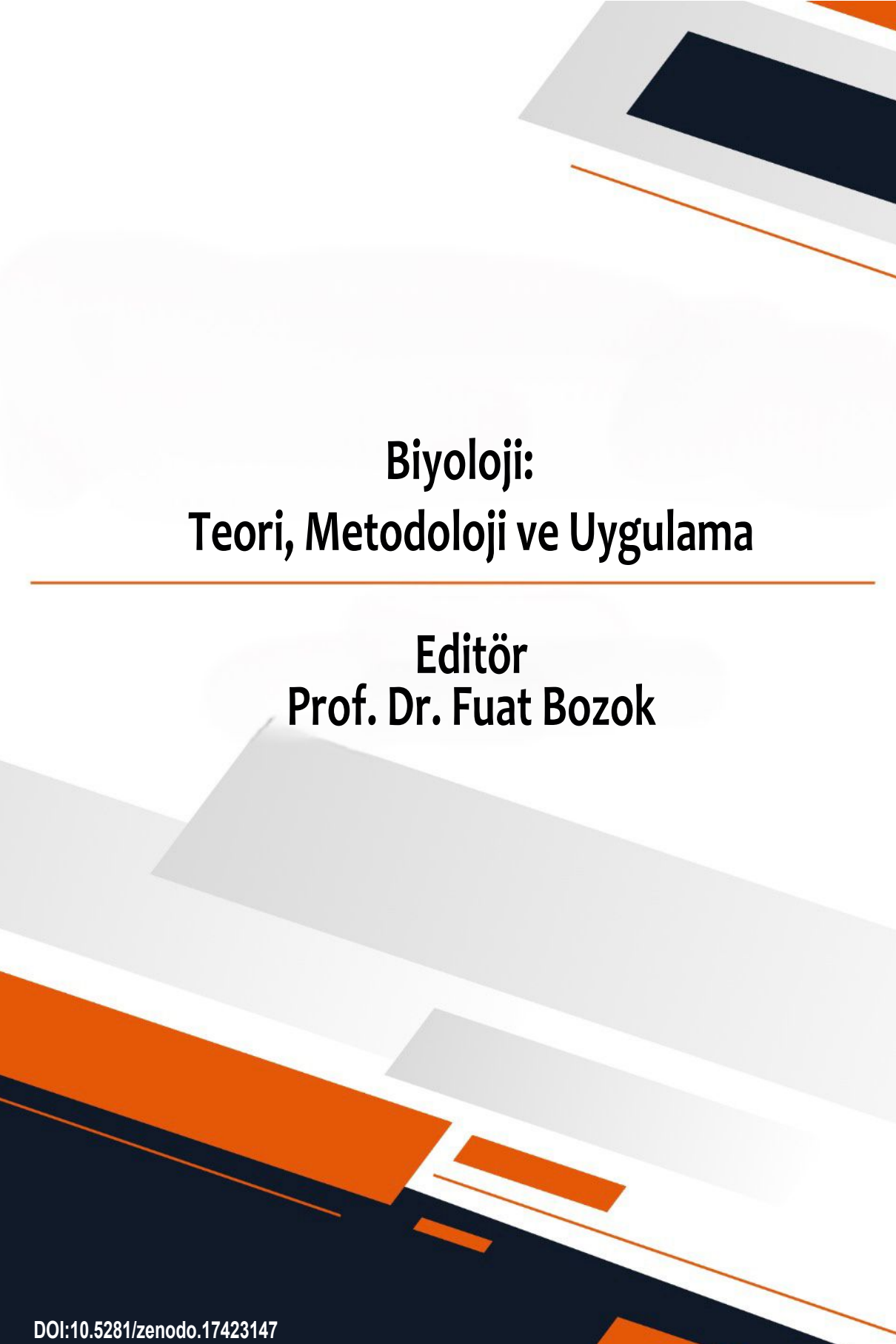




Biyoloji: Teori, Metodoloji ve Uygulama

**Editör
Prof. Dr. Fuat Bozok**

Biyoloji:
Teori, Metodoloji ve Uygulama

Editör
Prof. Dr. Fuat Bozok

İmtiyaz Sahibi
Platanus Publishing®

Editör
Prof. Dr. Fuat Bozok

Kapak & Mizanpaj & Sosyal Medya
Platanus Yayın Grubu

Birinci Basım
Ekim, 2025

Yayımcı Sertifika No
45813

ISBN
978-625-7078-19-1

©copyright
Bu kitabın yayım hakkı Platanus Publishing'e aittir. Kaynak gösterilmeden alıntı yapılamaz, izin alınmadan hiçbir yolla çoğaltılamaz.

Adres: Natoyolu Cad. Fahri Korutürk Mah. 157/B, 06480, Mamak,
Ankara, Türkiye.

Telefon: +90 312 390 1 118
web: www.platanuspublishing.com
e-mail: platanuskita@gmail.com



Platanus Publishing®

İÇİNDEKİLER

BÖLÜM 1.....	5
Kanser Araştırmalarında Hücre Kültürü Modellerinin Evrimi: 2D'den 3D ve Organoid Sistemlerine	
Gizem Akman & İdil Çetin	
BÖLÜM 2.....	27
Kanser Biyokimyasına Tarihsel Bakış	
Şeker Dağ	
BÖLÜM 3.....	51
Hayvancılıkta Dijital İkizler: Teknolojiler, Omik Veriler ve Gelecek Perspektifleri	
Sertaç Atalay	



BÖLÜM 1

Kanser Araştırmalarında Hücre Kültürü Modellerinin Evrimi: 2D’den 3D ve Organoid Sistemlerine

Gizem Akman¹ & İdil  etin²

1. Giriş

Hücre kültürü teknikleri, modern biyolojinin temel taşlarından biri olarak, hücre davranışlarını, fizyolojik tepkilerini ve moleküler mekanizmalarını laboratuvar ortamı gibi kontrollü koşullar altında incelemeye olanak tanımaktadır (Freshney, 2016). Bu yöntemler hem temel biyolojik mekanizmaların     lmesinde hem de translasyonel tıp uygulamalarında önemli bir yer edinmiştir. Özellikle kanser biyolojisinde, hücre kültürü modelleri tümör hücrelerinin proliferasyon, farklılaşma, invazyon, metastaz ve ilaç yanıtı gibi karmaşık süreçlerinin anlaşılmasında vazgeçilmez araçlar haline gelmiştir (Kapa czyńska vd., 2018).

Bu süreçte, 20. yüzyılın ortalarından itibaren yaygın olarak kullanılan 2D kültür sistemleri yerini 3D kültür sistemlerine bırakarak, bu yapılar da biyolojik süreçlerin daha doğru şekilde modellenmesine imkan tanımıştır (Pampaloni vd., 2007; Antoni vd., 2015). Günümüzde bu yaklaşımlar, organoid modelleri ve mikroakışkan tabanlı “organ-on-a-chip” sistemleri ile birleşerek, hücre kültürü teknolojilerinin gerçek doku yapısını ve hücreler arası etkileşimleri taklit etme kapasitesini önemli ölçüde artırmıştır. Bu gelişmeler, özellikle kanser biyolojisi başta olmak üzere immünoloji, farmakoloji ve doku mühendisliği gibi birçok alanda hem deneysel doğruluk hem de klinik öncesi çalışmalar ve öngörü açısından devrim niteliğindedir (Langer ve Vacanti, 1993; Huh vd., 2010; Fatehullah vd., 2016; Shannon vd., 2016; Segeritz ve Vallier. 2017).

2. İki Boyutlu (2D) Hücre Kültürü Modelleri

2.1. Temel  zellikler ve Tarihsel Gelişim

İki boyutlu (2D) hücre kültürü sistemleri, hücrelerin genellikle plastik veya cam yüzeyler üzerinde monolayer (tek tabaka) şeklinde büyümesini esas alan klasik bir *in vitro* modeldir (Freshney, 2016). Hücre kültürü teknikleri, 19. yüzyılın sonlarında başlayan doku dışı kültür çalışmalarıyla temellerini atmıştır. Wilhelm Roux’un embriyonik dokuları canlı ortamdan ayırarak çalışması, bu

¹ Öğr. Gör. Dr., İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Genel Biyoloji Anabilim Dalı, Orcid: 0000-0003-4301-5862

² Doç. Dr., İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Genel Biyoloji Anabilim Dalı, Orcid: 0000-0002-3961-6422

yaklaşımın ilk örneklerinden sayılabilir (Moro vd., 2024). Bu yöntem, ilk kez Ross G. Harrison'ın sinir hücreleri üzerinde yaptığı deneylerle modern anlamda biyolojik araştırmalarda yer bulmuştur (Harrison, 1906).

1930'lu ve 1940'lı yıllarda geliştirilen sentetik besiyerleri ve antibiyotiklerin kullanımı, kültürlerin kontaminasyondan korunmasını kolaylaştırmış, yöntemi yaygın ve güvenilir hale getirmiştir (Eagle, 1959).

1950'li yıllarda HeLa hücre hattının izole edilmesi (Gey vd., 1952), hücre kültürü tarihinde bir dönüm noktasıdır. HeLa, yalnızca insan kaynaklı ilk ölümsüz hücre hattı olmakla kalmamış, aynı zamanda hücre biyolojisinde standardizasyonun önünü açmıştır. Bunu takiben MCF-7 (meme kanseri; Soule vd., 1973), A549 (akciğer adenokarsinomu; Giard vd., 1973) ve HepG2 (hepatoselüler karsinom; Aden vd., 1979) gibi hücre hatları, preklinik çalışmaların standart modelleri arasında yer almaktadır. Bu hatların geliştirilmesi, farklı doku ve tümör tiplerini temsil eden 2D modellerin yaygınlaşmasını sağlamıştır.

2D kültürün temel prensibi, hücrelerin uygun bir yüzey üzerine ekilmesi ve uygun besi ortamlarında, optimal pH aralığında, uygun sıcaklık ve CO₂ koşullarında çoğaltılmasıdır (Masters, 2000). Ortama genellikle serum eklenerek büyüme faktörleri, hormonlar ve taşıyıcı proteinler sağlanır. Böylece hücreler, doğal ortamda olduğu gibi proliferasyon, morfolojik organizasyon ve gen ekspresyonu gösterebilirler.

2.2. Hücresel Dinamikler ve Moleküler Özellikler

2D kültür ortamında hücreler, yüzey üzerinde polarize bir şekilde büyür ve yüzeye bağımlı adezyon molekülleri (örneğin integrinler, kadherinler) aracılığıyla substrata tutunurlar (Yamada ve Cukierman, 2007). Hücrelerin iki boyutlu bir düzlemde büyümesi, sitoskeletal organizasyonu, mekanik duyarlılığı ve gen ekspresyon profillerini değiştirerek biyolojik tepkilerin fizyolojik koşullardan sapmasına neden olabilir (Edmondson vd., 2014). Ayrıca tutundukları yüzeylerin sertliği, kimyasal kaplama özellikleri gibi fizikokimyasal özellikler de hücre davranışını doğrudan etkileyebilir (Simitzi vd., 2017).

2D sistemlerde hücre-hücre etkileşimleri sınırlıdır; bu da özellikle tümör mikroçevresinin önemli bir bileşeni olan parakrin sinyal iletimi ve ekstrasellüler matriks (ECM) etkileşimlerinin eksikliğine yol açmaktadır (Bissell vd., 2003).

2.3. Avantajlar ve Uygulama Alanları

2D kültür sistemlerinin en belirgin avantajı, yüksek tekrarlanabilirlik ve deneysel kontrol kolaylığıdır. Homojen hücre tabakaları, hücre büyüme hızı, morfolojik değişiklikler ve genetik manipülasyonların mikroskopik olarak kolayca gözlemlenmesini sağlar (Kapałczyńska vd., 2018). Bu durum, hücre

döngüsü, proliferasyon ve sitotoksosite gibi parametrelerin nicel olarak izlenmesine olanak tanır (Edmondson vd., 2014).

Bir diğer önemli avantaj, 2D sistemlerin ekonomik ve teknik erişilebilirliğidir. 3D veya organoid kültürlerle karşılaştırıldığında, 2D sistemlerin laboratuvar kurulumu basit, malzeme maliyeti düşüktür ve büyük ölçekte deneylerin yürütülmesine elverişlidir. Bu nedenle farmasötik endüstride yüksek verimli ilaç tarama (high-throughput screening) çalışmalarında sıklıkla tercih edilmektedir. Binlerce bileşiğin hızlı şekilde taranabilmesi açısından standartlaştırılmış hücre hatları kullanılmaktadır (Hughes vd., 2010). Ayrıca hücrelerin monolayer yapısı, mikroskopi temelli görüntüleme teknikleri ile kolay gözlemlenebilmesini sağlar (Pampaloni vd., 2007).

Ayrıca 2D kültürler, moleküler biyoloji teknikleriyle (ör. Western blotting, qPCR, RNA-seq, immunofloresan boyama) doğrudan entegre edilebilir olmaları nedeniyle deneysel esneklik sunar. Bu modeller, gen susturma (siRNA, shRNA), aşırı ekspresyon veya gen düzenleme (CRISPR-Cas9) çalışmalarında yüksek verimlilik sağlar (Kaur ve Dufour, 2012). Dolayısıyla 2D kültür, hem temel hücre biyolojisi çalışmalarında hem de toksisite değerlendirmelerinde halen yaygın bir araç olarak kullanılmaktadır (Kapałczyńska vd., 2018).

2.4. Sınırlılıklar ve Translasyonel Kısıtlamalar

Her ne kadar 2D kültür sistemleri hücre biyolojisinin temelini oluşturmuş olsa da, bu modellerin *in vivo* tümör mikroçevresini taklit etme kapasitesi sınırlıdır. Bu durum, özellikle ilaç geliştirme süreçlerinde önemli hatalara neden olabilir. Literatürde, 2D kültürlerde etkin bulunan birçok antikanser bileşiğin, hayvan modellerinde veya klinik çalışmalarda başarısız olduğu rapor edilmiştir (Breslin ve O'Driscoll, 2013; Guerrero-López vd., 2025). Ayrıca 2D kültürde ilaç duyarlılığı ve farmakodinamik sonuçlarının, 3D modellere göre genellikle farklı olduğu gözlemlenmiştir (Chunduri ve Maddi, 2022). Örneğin, MCF-7 meme kanseri hücreleri 2D kültürde yüksek proliferatif aktivite sergilerken, aynı hücre hattı 3D ortamda farklı gen ekspresyon profilleriyle daha diferansiye bir fenotip gösterebilmektedir (Lee vd., 2007). Bunun temel nedenleri arasında, hücrelerin 2D ortamda doğal besin, oksijen ve metabolit gradyanlarına maruz kalmamaları; ECM ile biyomekanik ilişkilerinin zayıf olması; ve hücre fenotipinin kültür süresince hızla değişmesi sayılabilir (Weigelt vd., 2010; Antoni vd., 2015; Li ve Kilian, 2015; Kapałczyńska vd., 2018; Jensen ve Teng, 2020).

2.5. 2D Modellerin Günümüzdeki Rolü

2D kültür sistemleri, kolay uygulanabilirlikleri ve tekrarlanabilirlikleri nedeniyle uzun yıllardır kullanılmaktadır. Ancak bu sistemler, hücrelerin üç boyutlu mikroçevresini yansıtmadıkları için ilaç duyarlılığı ve gen ekspresyonu düzeyinde *in vivo* koşullardan farklılık gösterir. Ancak 2D kültür modelleri,

karmaşık 3D sistemlerin değerlendirilmesinde temel bir referans noktası olarak kullanılmaya devam etmektedir. (Hynes, 2009).

Bununla birlikte, araştırma eğilimleri, 2D kültürlerin daha fizyolojik ortamlara dönüştürülmesi yönündedir. ECM kaplı yüzeyler (Simitzi vd., 2017), dinamik akış sistemleri (Li ve Kilian, 2015) veya ko-kültür modelleri gibi yenilikçi yaklaşımlar, klasik 2D sistemlerin biyolojik gerçekliğini artırmak için geliştirilmektedir (Yamada ve Cukierman, 2007).

3. Üç Boyutlu (3D) Kültür Modellerine Geçiş

3D hücre kültürü sistemleri, hücrelerin doğal etkileşimleri taklit edebilmesini amaçlayan ileri düzey *in vitro* modellerdir. 3D kültürler, hücrelerin yalnızca yatay düzlemde değil, aynı zamanda derinlik boyunca organize olmasına izin verir; bu durum hücre-hücre ve hücre-ECM etkileşimlerinin biyolojik olarak daha gerçekçi biçimde sürdürülmesini sağlar (Edmondson vd., 2014; Antoni vd., 2015).

Geleneksel 2D kültür sistemlerinin *in vivo* koşulları yeterince yansıtamaması, özellikle kanser biyolojisi, ilaç tarama ve rejeneratif tıp alanlarında 3D modellerin hızla yaygınlaşmasına yol açmıştır. Günümüzde 3D kültürler, hücrelerin morfolojisi, gen ekspresyonu, metabolizması ve sinyal iletimi açısından dokusal gerçekliğe en yakın laboratuvar ortamlarını sağlamaktadır (Fitzgerald vd., 2015; Aisenbrey ve Murphy, 2020). Bu sistemler, tümör mikrosisteminin karmaşık yapısını modellemede özellikle değerlidir. Kanser hücreleri, stromal fibroblastlar, bağışıklık hücreleri ve endotel hücreleri gibi farklı hücre tiplerinin bir arada kültürlenebilmesi, tümör heterojenitesi ve ilaç direnci gibi olguların daha doğru şekilde incelenmesini mümkün kılar (Weigelt vd., 2010; Drost ve Clevers, 2018).

3.1. 3D Kültür Oluşturma Teknikleri

3D kültür modellerinin oluşturulmasında çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Bu yöntemler, hücrelerin kendi kendine organize olmasına ya da bir destek matrisi üzerinde büyümesine olanak tanır. En yaygın kullanılan yöntemler şunlardır:

Kendiliğinden Oluşan Hücre Agregatları (Sferoid Modeller): Sferoid kültürler, hücrelerin düşük yapışkanlık ortamlarında kendi aralarında birleşerek küresel yapılar oluşturduğu sistemlerdir. Bu modeller, oksijen, besin ve atık madde gradyanları yaratarak *in vivo* tümör heterojenitesini taklit eder (Hirschhaeuser vd., 2010). Merkezi bölgede hipoksi ve nekroz görülürken, dış tabakalarda proliferatif hücreler bulunur; bu yapı, gerçek tümör dokularındaki morfolojik ve metabolik farklılaşmayı yansıtır (Nath ve Devi, 2016). Bu nedenle çok hücreli tümör sferoidleri (MCTS), kemoterapi ve radyoterapi direncinin incelenmesinde değerli modellerdir (Friedrich vd., 2009).

Son yıllarda ultra-low attachment (ULA) plakalar, hanging drop teknikleri ve mikrodamlı sistemleri gibi yöntemler sferoid üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Costa vd., 2016).

Matrigel veya ECM temelli kültür teknikleri: Ekstrasellüler matriks destekli 3D kültürler, hücrelerin doğal mikrosistemini biyokimyasal ve mekanik açıdan yeniden oluşturur. Bu sistemlerde hücreler, genellikle Matrigel, kolajen, fibrin veya aljinat gibi biyopolimerik jeller içinde büyütülür (Cukierman vd., 2001; Breslin ve O'Driscoll, 2013; Aisenbrey ve Murphy, 2020). ECM bileşenleri, hücre morfolojisi, adezyon, proliferasyon, migrasyon ve farklılaşma gibi süreçleri düzenleyerek hücrelerin fonksiyonel fenotipini *in vivo*'ya yakın biçimde şekillendirir (Breslin ve O'Driscoll, 2013). Örneğin, meme epitel hücreleri kolajen matriks içinde daha belirgin duktal yapılara dönüşürken, sert matrigel ortamlarında invazif fenotip gösterebilir (Lee vd., 2007). Bu tip modeller, özellikle kanser metastazı, anjiyogenez, fibrozis ve doku yeniden yapılanması çalışmalarında kullanılmaktadır (Ravi vd., 2015; Fatehullah vd., 2016).

Biyomühendislik ve Mikroakışkan Tabanlı Sistemler: Bu teknoloji, organ-on-chip ve doku mühendisliği çalışmalarında önemli bir yer edinmiştir (Murphy ve Atala, 2014). Mikroakışkan tabanlı "organ-on-chip" sistemleri, doku düzeyinde sıvı akışı, besin transferi ve mekanik kuvvetleri taklit ederek hücrelerin fizyolojik tepkilerini dinamik biçimde izlemeye olanak sağlar (Esch vd., 2015; Hassell vd., 2017).

3.2. Hücresel ve Moleküler Özellikler

3D kültür sistemleri, hücrelerin morfolojik organizasyonu, gen ekspresyonu, metabolik aktivitesi ve sinyal iletimi bakımından 2D kültür sistemlerinden belirgin şekilde farklı davranış sergiler (Edmondson vd., 2014; Antoni vd., 2015). Bu farklılıklar, 3D modellerin hücre-hücre ve hücre-ECM etkileşimlerini korumasından ve hücrelerin doğal mikroçevresini taklit etmesinden kaynaklanır. 2D sistemlerde hücreler genellikle tek katman halinde ve düz bir yüzey üzerinde büyürken, 3D kültür ortamında hücreler uzamsal organizasyon gösterir ve doğal polaritelerini yeniden kazanırlar (Yamada ve Cukierman, 2007). Bu durum, epitel hücrelerinin apikal-bazal polaritesinin, sitokeletal yeniden yapılanmanın ve adezyon kompleksi oluşumlarının *in vivo* koşullara daha yakın şekilde gelişmesini sağlar (Pampaloni vd., 2007). Örneğin, Lee vd. (2007), meme epitel hücrelerinin 3D kolajen matriks içinde küresel asiner yapılar oluşturduğunu, buna karşın 2D yüzeyde yassı morfoloji sergilediğini göstermiştir. Benzer şekilde Kenny vd. (2007), 3D ortamda hücrelerin E-cadherin ve β -catenin aracılığıyla sağlam hücre-hücre bağlantıları kurduğunu, bu bağlantıların hücresel farklılaşmayı desteklediğini bildirmiştir.

3D kültürlerde ECM yalnızca fiziksel bir destek değil, aynı zamanda biyokimyasal sinyal düzenleyicisi olarak işlev görür (Cukierman vd., 2001). ECM'nin bileşimi, sertliği ve topolojisi hücrelerin fokal adezyon kompleksi, Rho/ROCK, FAK, YAP/TAZ gibi mekanosensör yolları aracılığıyla sinyal iletimini değiştirir (Gilkes vd., 2014; Aisenbrey ve Murphy, 2020). Bu mekanotransdüksiyon süreçleri, hücre proliferasyonu, migrasyonu ve farklılaşmasında belirleyici rol oynar. Özellikle YAP/TAZ transkripsiyon faktörlerinin 3D ortamda nükleer lokalizasyonunun azaldığı, bunun da proliferatif sinyalizasyonu baskılayarak farklılaşmayı desteklediği gösterilmiştir (Calvo vd., 2013). Bu bağlamda 3D sistemler, *in vivo* dokulardaki biyomekanik geri bildirimleri daha doğru biçimde yansıtır.

3.2.1. 3D Kültür Sistemlerinde İlaç Direnci, Gen Ekspresyonu ve Transkripsiyonel Yeniden Programlama

3D kültür ortamında hücrelerin transkriptomik profilleri 2D sistemlerden büyük ölçüde ayrılır. 3D modellerde hipoksi, besin gradyanları ve ECM sinyalleri, çeşitli transkripsiyon faktörlerinin (ör. HIF-1 α , NF- κ B, STAT3) aktivasyonuna yol açarak tümör mikroçevresinin daha gerçekçi biçimde taklit etmesine neden olur (Edmondson vd., 2014; Nath ve Devi, 2016). Bu durum, hücrelerin metabolik yeniden programlamasına ve adaptif gen ekspresyonuna neden olur. Bu yüzden 3D hücre kültür sistemleri, kanser hücrelerinin ilaç duyarlılığı ve gen ekspresyon profilleri bakımından 2D kültürlerle kıyasla belirgin farklılıklar göstermektedir (Fitzgerald vd., 2015).

3D kültürlerde hücrelerin gösterdiği artmış ilaç direnci, hem fiziksel hem de moleküler faktörlere bağlıdır. Fiziksel olarak, sferoid veya ECM bazlı kültürlerde ilaçların difüzyonu kısıtlanır; bu durum özellikle kemoterapötik ajanların (ör. doxorubicin, cisplatin, paclitaxel) merkezdeki hücrelere ulaşmasını engeller (Friedrich vd., 2009; Hirschhaeuser vd., 2010). Bu difüzyon bariyeri, tümörlerin *in vivo*daki tedaviye direnç mekanizmalarının temel unsurlarından biridir. Moleküler düzeyde ise, 3D ortamdaki hücreler hipoksik mikroçevre, mekanik stres, hücre-ECM etkileşimleri ve epitel-mezenkimal geçiş (EMT) gibi faktörlerle yeniden programlandığı ve EMT genlerinin aktivasyonu sık gözlenir. Bu durum, çoklu ilaç direncinden (MDR) sorumlu genlerin, özellikle ABCB1 (P-gp), ABCC1 (MRP1) ve ABCG2 (BCRP) gibi taşıyıcıların aşırı ekspresyonuna yol açabilir (Lovitt vd., 2014). Benzer şekilde, Desoize ve Jardillier (2000), 3D kültürlerde hücrelerin anti-apoptotik genleri (ör. BCL2, XIAP) daha yüksek düzeyde eksprese ettiğini ve bu durumun kemoterapiye dirençte etkili olduğunu bildirmiştir. Breslin ve O'Driscoll (2013) çalışmasında, 3D kültürdeki kanser hücrelerinin hücre döngüsüyle ilişkili genleri baskılayarak, anti-apoptotik genleri (ör. BCL2, XIAP) artırdığı gösterilmiştir. Başka bir çalışmada (Fitzgerald vd., 2015), 3D kültürlerde ilaç yanıtlarının yalnızca farmakokinetik değil, aynı

zamanda epigenetik yeniden düzenlemelerle ilişkili olduğunu göstermiştir. Histon modifikasyonları (özellikle H3K27me3) ve DNA metilasyon profilleri, 3D ortamda farklılaşarak hücrelerin uzun süreli direnç geliştirmesine katkıda bulunmaktadır. Weigelt vd. (2010) ve Kapalczyńska vd. (2018), 3D ortamlarda E-cadherin ekspresyonunun azaldığını, buna karşılık N-cadherin, Vimentin ve Snail gibi mezenkimal belirteçlerin arttığını ve bu değişikliklerin, invazyon ve metastaz potansiyelinin artışıyla ilişkili olduğu ortaya koyulmuştur. (Breslin ve O'Driscoll, 2013; Ravi vd., 2015).

3D kültür ortamı, hücrelerin transkripsiyonel profillerini kökten değiştirmektedir. Bu değişiklikler yalnızca gen seviyesinde değil, alternatif splicing, mikroRNA profilleri ve metabolik yolların yeniden düzenlenmesi düzeyinde de ortaya çıkmaktadır (Ravi vd., 2015; Aisenbrey ve Murphy, 2020).

Bu farklılıklar, 3D kültürlerin prelinik ilaç geliştirme çalışmalarında daha güvenilir modeller olarak değerlendirilmesini sağlamıştır. 2D modellerde etkili olduğu düşünülen birçok kemoterapötik, 3D veya in vivo koşullarda başarısız olmaktadır (Fitzgerald vd., 2015). Dolayısıyla 3D modeller, ilaç yanıtlarının gerçekçi tahmininde ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde kritik bir araç haline gelmiştir (Aisenbrey ve Murphy, 2020).

3.2.2. Metabolik Yeniden Programlama ve Hipoksi Adaptasyonu

3D sistemlerde besin ve oksijen dağılımı sınırlı olduğu için hücreler genellikle hipoksik mikroçevreye adaptasyon geliştirir (Hirschhaeuser vd., 2010). Bu durum, HIF-1 α aktivasyonu aracılığıyla glikolitik metabolizmayı teşvik eder, böylece enerji üretimi Warburg etkisine benzer biçimde oksijensiz glikoliz üzerinden sürdürülür. Bu metabolik yeniden programlama, enerji üretimini ve hücre canlılığını in vivo koşullara yakın düzeyde sürdürür (Hirschhaeuser vd., 2010). Ayrıca 3D kültürlerde mitokondriyal dinamikler, reaktif oksijen türleri (ROS) düzeyleri ve antioksidan yanıtlar da farklılık gösterebilmektedir. Bu değişimler, hem hücre yaşlanması hem de ilaç metabolizması süreçlerinde önemli sonuçlar doğurmaktadır.

3.2.3. Hücre Heterojenitesi ve Kök Hücre Fenotipi

3D kültür sistemleri, 2D modellere kıyasla hücre popülasyonu içindeki fonksiyonel heterojeniteyi koruma kapasitesine sahiptir (Nunes vd., 2019). Bu ortamlarda tümör kök hücre benzeri hücrelerin (CSC) oranı artmakta, bu hücreler yüksek ALDH1 aktivitesi ve CD44⁺/CD133⁺ fenotipiyle tanımlanmaktadır. CSC popülasyonunun bu şekilde sürdürülebilmesi, ilaç direnci ve tümör nüksü açısından transkripsiyonel öneme sahiptir. Drost ve Clevers (2018), organoid modellerin kök hücre nişini başarıyla koruyabildiğini ve genetik manipülasyonlarla hastaya özgü tümör gelişimini yeniden modelleyebildiğini

göstermiştir. Dolayısıyla 3D kültürler, kişiselleştirilmiş tıp ve ilaç geliştirme çalışmalarında önemli bir biyolojik köprü niteliğindedir.

3.3. Avantajlar ve Sınırlılıklar

3D hücre kültür sistemleri, son yıllarda kanser biyolojisi, doku mühendisliği ve farmakoloji alanlarında giderek daha fazla önem kazanmıştır. Geleneksel 2D hücre kültürlerine göre, hücrelerin morfolojik, genetik ve fonksiyonel özelliklerini *in vivo* koşullara daha yakın biçimde yansıtma kapasitesiyle dikkat çekmektedir (Edmondson vd., 2014; Antoni vd., 2015; Ravi vd., 2015).

Bununla birlikte, 3D modellerin sağladığı bu fizyolojik üstünlüklerin yanında teknik ve metodolojik bazı sınırlılıklar da bulunmaktadır.

3.3.1. 3D Kültür Sistemlerinin Avantajları

3D kültür modellerinin en önemli avantajlarından biri, hücrelerin üç boyutlu bir matriks içinde büyüyerek doğal doku mimarisini taklit etmesidir. Bu sistemlerde hücreler, komşu hücrelerle ve ekstrasellüler matriks (ECM) ile sürekli temas hâlinindedir; bu da hücre polarizasyonunun, sinyal iletiminin ve morfolojik organizasyonun 2D modellere kıyasla daha doğal olmasını sağlar (Pampaloni vd., 2007; Yamada ve Cukierman, 2007).

Bir diğer avantajı, hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimleri korunduğu için, 3D kültürlerde hücreler arasında doğal adezyon kompleksleri (örneğin E-cadherin, β -catenin) ve fokal adezyon noktaları yeniden oluşur (Cukierman vd., 2001). Bu etkileşimler, hücre iskeletinin yeniden yapılanmasını, mekanotransdüksiyon yollarının aktive olmasını ve ECM sertliğine karşı biyolojik yanıtların ortaya çıkmasını sağlar (Calvo vd., 2013; Gilkes vd., 2014). Dolayısıyla 3D modeller, doku sertliği, basınç, oksijen ve besin gradyanları gibi biyomekanik faktörlerin hücre davranışı üzerindeki etkilerini anlamak için daha doğru bir model sunar (Aisenbrey ve Murphy, 2020).

3D kültürlerde hücreler, hipoksi, besin sınırlılığı ve mekanik stres gibi mikroçevresel faktörlere maruz kaldıklarından, bu koşullar gen ekspresyon profillerini değiştirir. Bu durum, tümör hücrelerinin metastatik potansiyelini ve çoklu ilaç direncini artırır; dolayısıyla 3D modeller, ilaç yanıtlarının öngörülmesinde preklinik olarak daha güvenilir sistemler sunar (Fitzgerald vd., 2015).

3D kültür sistemleri, tümör dokularındaki hücresel heterojeniteyi ve kanser kök hücre (CSC) popülasyonlarını koruma kapasitesiyle öne çıkar (Nunes vd., 2019; Drost ve Clevers, 2018). Bu da 3D kültür sistemlerinin avantajlarından biridir.

3.3.2. 3D Kültür Sistemlerinin Sınırlılıkları

Her ne kadar 3D kültür sistemleri fizyolojik açıdan büyük avantajlar sunsa da, bazı teknik, metodolojik ve standartlaşma sorunları mevcuttur (Breslin ve O'Driscoll, 2013; Aisenbrey ve Murphy, 2020).

3D kültürlerin en önemli zorluklarından biri, deneyler arasında tekrarlanabilirlik sağlamaktır. Kullanılan biyomateryallerin ( r. Matrigel, kolajen) doğal kaynaklı olması, parti farklarından kaynaklanan değişkenliğe yol açar (Aisenbrey ve Murphy, 2020). Bu durum, hem hücre büyümesi hem de ilaç yanıtı sonuçlarını etkileyerek standardizasyon eksikliği yaratır.

Ayrıca 3D sistemlerin geometrisi, hücre yoğunluğu ve ECM sertliği gibi parametreler çoğu zaman laboratuvarıdan laboratuvara değişiklik göstermektedir (Astashkina ve Grainger, 2014).

3D yapılar, özellikle büyük sferoid ve organoidlerde, besin ve oksijen gradyanlarının dengesiz dağılımına neden olabilir. Bu durum, hücrelerin merkezinde hipoksik veya nekrotik bölgelerin oluşmasına yol açar (Hirschhaeuser vd., 2010). Her ne kadar bu durum tümörlerin in vivo davranışını taklit etse de, bazı deneysel analizlerde hücre canlılığını sınırlayıcı bir faktör hâline gelebilir.

3D kültürlerin hacimsel yapısı, geleneksel mikroskopik analizlerin ( r. floresan mikroskopi, immunboyama) etkinliğini azaltabilir. Bu nedenle, 3D sistemlerde genellikle konfokal mikroskopi veya 3D görüntüleme teknikleri gereklidir; bu da maliyet ve teknik zorlukları artırır (Breslin ve O'Driscoll, 2013).

Ayrıca 3D yapılar içinde homojen ilaç difüzyonu ve sonrasında farmakodinamik analizlerin yapılması da oldukça karmaşıktır (Friedrich vd., 2009).

3D kültür sistemlerinin kurulumu, bakım ve analiz süreçleri 2D modellere göre daha fazla zaman, maliyet ve teknik uzmanlık gerektirir (Murphy ve Atala, 2014). Ayrıca organoid ve biyobaskı sistemlerinde kullanılan ECM bazlı materyaller, ileri düzey sterilizasyon ve laboratuvar koşulları gerektirir. Bu durum, özellikle rutin toksisite taramalarında 3D modellerin yaygın kullanımını sınırlamaktadır (Fitzgerald vd., 2015).

3.4. Güncel Uygulama Alanları

3D hücre kültürü sistemleri, son yıllarda hem temel biyoloji araştırmalarında hem de translasyonel tıp uygulamalarında devrim niteliğinde yenilikler sağlamıştır. Bu sistemler, ilaç geliştirme, tümör modelleme, rejeneratif tıp, kişiselleştirilmiş tedavi ve organ-on-chip teknolojileri gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Fitzgerald vd., 2015; Ravi vd., 2015). 3D kültürlerin sağladığı

biyolojik gerçekçilik, hücrelerin doğal mikroçevreye benzer koşullarda davranmasını olanaklı kılarak, klasik 2D modellerin ötesinde çok boyutlu analizlere kapı açmıştır.

3D hücre kültürü sistemleri, ilaç geliştirme ve toksisite testlerinde, tümör modellemesinde, organoid ve organ-on-chip teknolojilerinde, doku mühendisliği ve klinik uygulamalarda geniş bir yer tutmaktadır.

3.5. Gelecek Perspektifleri

3D hücre kültürü ekosistemi; tanımlı biyomalzemeler, standardizasyon, çok-omikli (multi-omics) karakterizasyon, yapay zekâ destekli fenotipleme, vaskülarize/immün-yeterli organoidler, çoklu-organ-çip entegrasyonları ve klinik-derece (GMP) iş akışları etrafında hızla olgunlaşmaktadır. 3D kültürlerden elde edilen görüntü ve omik verilerini değerlendirerek ilaç yanıtlarını tahmin etmeye başlamıştır (Ravi vd., 2015). Bu eksenlerde beklenen ilerlemeler, 3D modellerin translasyonel değerini artırarak kişiselleştirilmiş tıpta daha öngörücü bir konum sağlayacaktır (Fitzgerald vd., 2015; Ravi vd., 2015).

Bu bağlamda, sentetik ECM'lerle alternatiflerin yaratılması, 3D kültür sisteminin yapay zeka ile desteklenmesi, 3D deneylerin standartizasyonu ve GMP ilkeleri doğrultusunda 3D kültürlerin klinik uygulamalara entegrasyonu önem kazanmaktadır.

4. Organoid Teknolojisi ve Kişiselleştirilmiş Kanser Araştırmaları

4.1. Hasta Kaynaklı Organoidlerin (PDO) Oluşturulması

PDO'lar, primer tümör dokusundan veya metastazlardan elde edilen hücrelerin, tanımlı niş faktörleri içeren 3D kültür koşullarında kendi kendine organize olarak uzun süreli çoğalma gösterdiği, dokuya özgü mimari ve fonksiyonel özellikleri koruyan yapılardır. İlk sistematik kanser organoid biyobankalarından biri, kolorektal kanser (KRK) hastalarından ardışık olarak türetilen tümör ve eşleşik normal organoid hatları ile Rspodin/Wnt tabanlı kültür koşullarında oluşturulmuş ve tümörün temel fenotiplerini büyük ölçüde koruduğu gösterilmiştir (van de Wetering vd., 2015). Benzer biçimde, meme kanseri için geniş kapsamlı, uzun süreli yaşatılabilen bir organoid biyobankası geliştirilmiş; morfoloji ve genetik alt tiplerin çeşitliliği organoidlerde yakalanmıştır (Sachs vd., 2018). İnce bağırsak epitelinden türetilen insan organoidlerinde, doğal kök hücre nişi ligandlarına dayalı rafine koşullar ile eşzamanlı öz-yenilenme ve çoklu farklılaşma sağlanmış; bu yaklaşım kanserden türetilen organoidlerin kültür başarı oranlarını ve fenotipik stabilitesini desteklemiştir (Fujii vd., 2018).

4.2. Genetik Heterojeniteyi Koruma Potansiyeli

PDO'lar, primer tümörlerde gözlenen intratumöral ve hastalar arası heterojeniteyi yüksek derecede koruyabilmektedir. KRK organoid biyobankasında tümör-matris ilişkilerinin ve sürücü mutasyonların organoidlerde sürdüğü, gen ifadesi ve ilaç yanıtı profillerinin de tümörle uyumlu olduğu gösterilmiştir (van de Wetering vd., 2015). Meme kanseri organoidleri, luminal, HER2-pozitif ve üçlü-negatif alt tipler dâhil klinik ve patolojik çeşitliliği yansıtmakta; organoid morfolojisi çoğu kez tümör histolojisiyle eşleşmektedir (Sachs vd., 2018). Pankreas kanseri PDO kütüphaneleri, mutasyon yelpazesi ve transkripsiyonel alt tipler açısından primer tümörle paralellik göstermiş; böylece genomik-alt tip temelli tedavi stratejilerinin ön değerlendirilmesi mümkün olmuştur (Tiriace vd., 2018).

4.3. Klinik Öngörü ve İlaç Testlerinde Kullanımı

PDO'ların en kritik değeri, tedavi yanıtını öngörebilme potansiyelidir. Metastatik ve yoğun tedavi almış KRK ve gastroözofageal kanserli hastalardan oluşturulan PDO'ların klinik yanıtlarla yüksek benzerlik sergilediği; organoid duyarlılık/direnç profillerinin hasta sonuçlarını yansıttığı gösterilmiştir (Vlachogiannis vd., 2018). KRK'de kemoterapiye (örn. FOLFOX, FOLFIRI) yanıtın PDO'larla prospektif olarak öngörülebileceği; organoid temelli testlerin klinik sonuçları doğru sınıflandırabildiği bildirilmiştir (Ooft vd., 2019). Pankreatik kanserde PDO profillemesi, yaygın yanıt verenler ve direnç paternlerini ortaya koyarak aday biyobelirteçlerin belirlenmesini ve ilaç kombinasyonlarının rasyonel seçimini desteklemiştir (Tiriace vd., 2018). Bu bulgular, organoidlerin prelinik ilaç taraması, doz/şema optimizasyonu ve hasta-seçimi gibi klinik karar destek süreçlerinde giderek artan bir rol üstlenebileceğine işaret eder (Tuveson ve Clevers, 2019).

5. Mikroakışkan Sistemler ve Organ-on-Chip Yaklaşımı

5.1. Hücre Kültüründe Mikroakışkan Teknolojisinin Temelleri

Mikroakışkan (microfluidics) teknolojisi; mikrometre ölçekli kanallarda akış, difüzyon ve kesme (shear) gerilmesi gibi parametreleri yüksek hassasiyetle denetleyerek hücrelerin maruz kaldığı fiziksel-kimyasal mikroortamı yeniden kurar ve böylece hücre metabolizmasını, polarizasyonunu ve mekanotransdüksiyon sinyal yollarını (örneğin FAK, YAP/TAZ) belirgin biçimde etkiler. "Organ-on-a-chip (OoC)" platformları bu prensipleri kullanarak tek bir çip üzerinde doku veya organ işlev birimlerini biyomimetik şekilde entegre eder. Bu sistemlerde epitel-endotel arayüzleri, gözenekli membranlar, kontrollü perfüzyon ve esnetilebilir PDMS diyaframlarla mekanik solunum gibi fizyolojik kuvvetler taklit edilebilir (Huh vd., 2010). Bu yaklaşım, hücre-hücre ve hücre-ECM etkileşimlerinin yanı sıra gradyan oluşumunu, ilaç ve oksijen

difüzyonunu da kontrol edebilme imkânı sağlar. Güncel literatür, bu sistemlerin hastalık modelleme, toksisite testleri ve çoklu-organ etkileşimlerinin araştırılmasında klasik 2D/3D kültürlerle kıyasla daha gerçekçi ve öngörücü olduğunu göstermektedir (Ingber, 2022).

5.2. Dinamik Ortamın Hücre Davranışına Etkisi

Huh ve arkadaşlarının geliştirdiği “breathing lung-on-a-chip” modelinde, alveol-kapiller bariyer oluşturularak solunumla ilişkili mekanik gerilmenin nanoparçacık toksisitesini ve inflamatuvar yanıtı artırdığı gözlemlenmiştir (Huh vd., 2010;Huh, 2015). Benzer şekilde bağırsak-on-chip modelleri, akış ve mekanik uyarıların bağırsak epitelinde bariyer bütünlüğü, mukus üretimi ve immün hücre etkileşimlerini doğrudan şekillendirdiğini göstermektedir (Bein vd., 2018). Dinamik koşullar, 3D statik kültürlerin aksine hücrelerin daha uzun süreli olgunlaşmasını, fizyolojik davranış sergilemesini ve ilaç metabolizmasının daha doğru modellenmesini mümkün kılar (Huh, 2015; Ingber, 2022).

5.3. Tumor-on-a-Chip Modellerinin İlaç Tarama ve Toksisite Analizlerindeki Önemi

Liu vd. (2021) tarafından geliştirilen sistemlerde hipoksi, ECM yoğunluğu ve shear etkisi altında ilaç dağılımı analiz edilerek çoklu ilaç direncinin (MDR) fizyolojik temeli aydınlatılmıştır. Dinamik akış koşulları, aynı zamanda kombinasyon tedavilerinin zamanlamasının ve dozajının optimizasyonunda kullanılabilir (Ingber, 2022). FDA’nın ve akademik merkezlerin yürüttüğü yeni yaklaşımlar, mikro-fizyolojik sistemlerin ilaç güvenliliği ve karaciğer toksisitesi gibi alanlarda geleneksel hayvan modellerine alternatif oluşturabileceğini göstermektedir (Stern vd., 2023). Çoklu organ-on-chip sistemleri ise tümör etkinliği ile sistemik toksisiteyi aynı deney platformunda eş zamanlı değerlendirme olanağı sunarak prelinik ilaç geliştirme süreçlerinde devrim niteliğinde bir yaklaşım ortaya koymaktadır (Xu vd., 2024).

6. Hücre Kültürü Modellerinde Gelecek Perspektifleri

Hücre kültürü teknolojilerinde son yıllarda yaşanan ilerlemeler, geleneksel iki boyutlu sistemlerin ötesine geçerek karmaşık, dinamik ve kişiselleştirilmiş modellerin geliştirilmesine olanak tanımıştır. Bu eğilim, hem biyomühendislik hem de hesaplamalı biyoloji disiplinlerinin birleşmesiyle güç kazanmış; 3D biyobaskı (bioprinting), yapay zekâ (YZ) destekli modelleme, etik standartların yeniden tanımlanması ve klinik entegrasyonun hızlanmasıyla yeni bir döneme girilmiştir.

6.1. 3D Biyo-Baskı Teknolojileri

3D biyo-baskı, hücreleri, biyomimetik hidrojelleri ve biyomalzemeleri katman katman yerleştirerek fonksiyonel doku veya organ benzeri yapılar

oluşturmayı amaçlayan yenilikçi bir yaklaşımdır. Son yıllarda kullanılan “bioink” materyaller, yalnızca hücrelerin yaşamını desteklemekle kalmayıp, aynı zamanda dokuya özgü mekanik, kimyasal ve biyolojik özellikleri taklit etmektedir (Groll vd., 2021).

Hücre kültürü modellerinde biyo-baskı teknolojisi, özellikle organ-on-chip ve tümör-on-chip sistemlerinin uzantısı olarak görülmektedir. Kanser araştırmalarında, biyobaskı ile oluşturulan tümör modelleri, ilaç penetrasyonu ve mikroçevre etkileşimlerini mekansal olarak kontrollü biçimde inceleme olanağı sağlamaktadır. Bu durum, gelecekte implant edilebilir doku modellerinin geliştirilmesi açısından önemli bir potansiyel sunmaktadır.

6.2. Yapay Zekâ Destekli Model Optimizasyonu ve Klinik Uygulamalara Entegrasyon

YZ ve makine öğrenimi (ML) yaklaşımları, hücre kültürü modellerinin hem tasarımında hem de analizinde otomasyon ve tahmin gücü kazandırmaktadır. Yapay zekâ algoritmaları, kültür koşullarını (besin kompozisyonu, oksijen basıncı, hücre yoğunluğu vb.) optimize etmek, canlı görüntüleme verilerinden hücre davranışını öngörmek ve ilaç yanıtlarını modellemek için kullanılmaktadır.

YZ tabanlı görüntü analizi, özellikle 3D organoid morfolojilerinin sınıflandırılması ve fenotipik değişimlerin izlenmesinde çığır açmıştır. Ayrıca, kişiselleştirilmiş tedavi planlamasında, organoid kültürlerini tamamlayıcı bir araç olarak dijital ikiz yaklaşımı da öne çıkmaktadır.

6.3. Etik ve Reprodüksiyon Sorunları

İleri düzey hücre kültürü sistemleri, özellikle insan kök hücrelerinden türetilen organoidlerin ve karmaşık beyin benzeri yapıların (brain organoids) geliştirilmesiyle birlikte yeni etik tartışmaları gündeme getirmiştir. Organoidlerin insan bilincine benzer elektriksel aktivite göstermesi, “bilinç potansiyeli” ve “ara bilinç düzeyleri” konularında tartışmalar doğurmuştur (Lavazza ve Massimini, 2018).

Etik endişelerin yanı sıra reprodüksiyon (yeniden üretilebilirlik) sorunları da büyük bir engel oluşturmaktadır. Farklı laboratuvarlar arasında organoid büyüme koşullarındaki küçük farklılıklar, fenotipte önemli sapmalara yol açabilmektedir (Bredenoord vd., 2017). Bu nedenle, uluslararası konsorsiyumlar standardizasyon protokollerini ve veri paylaşım platformlarını geliştirmektedir (Marx vd., 2020).

7. Sonuç ve Değerlendirme

Sonuç olarak, hücre kültürü modellerinin kanser biyolojisine katkılarını bütüncül biçimde değerlendirilmelidir. 2D sistemlerden 3D, organoid ve

mikroakışkan modellere geçiş, in vivo koşulları daha doğru temsil ederek translasyonel araştırmalara yeni bir yön kazandırarak tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından vazgeçilmez hale gelmiştir.

Ancak gelecekteki başarı, yalnızca teknolojik ilerlemeye değil, aynı zamanda etik şeffaflık, veri standardizasyonu ve uluslararası işbirliğine de bağlı olacaktır. Hücre kültürü modellerinin bu yönleriyle evrimleşmesi, hem bilimsel hem de klinik ekosistemlerde insan biyolojisini modellemede yeni bir paradigma oluşturacaktır.

KAYNAKÇA

- Aden, D. P., Fogel, A., Plotkin, S., Damjanov, I., & Knowles, B. B. (1979). Controlled synthesis of HBsAg in a differentiated human liver carcinoma-derived cell line. *Nature*, 282(5739), 615–616. doi:10.1038/282615a0
- Aisenbrey, E. A., & Murphy, W. L. (2020). Synthetic alternatives to Matrigel. *Nature Reviews Materials*, 5(7), 539–551. doi:10.1038/s41578-020-0199-8
- Antoni, D., Burckel, H., Josset, E., & Noel, G. (2015). Three-dimensional cell culture: A breakthrough in vivo. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(3), 5517–5527. doi:10.3390/ijms16035517
- Astashkina, A., & Grainger, D. W. (2014). Critical analysis of 3-D organoid in vitro cell culture models for high-throughput drug candidate toxicity assessments. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 69–70, 1–18. doi:10.1016/j.addr.2014.02.008
- Bein, A., Shin, W., Jalili-Firoozinezhad, S., Park, M. H., Sontheimer-Phelps, A., Tovaglieri, A., Chalkiadaki, A., Kim, H. J., & Ingber, D. E. (2018). Microfluidic organ-on-a-chip models of human intestine. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 5(4), 659–668. doi:10.1016/j.jcmgh.2017.12.010
- Bissell, M. J., Rizki, A., & Mian, I. S. (2003). Tissue architecture: The ultimate regulator of breast epithelial function. *Current Opinion in Cell Biology*, 15(6), 753–762. doi:10.1016/j.ceb.2003.10.016
- Bredenoord, A. L., Clevers, H., & Knoblich, J. A. (2017). Human tissues in a dish: The research and ethical implications of organoid technology. *Science*, 355(6322), eaaf9414. doi:10.1126/science.aaf9414
- Breslin, S., & O'Driscoll, L. (2013). Three-dimensional cell culture: The missing link in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 18(5–6), 240–249. doi:10.1016/j.drudis.2012.10.003
- Calvo, F., Ege, N., Grande-Garcia, A., Hooper, S., Jenkins, R. P., Chaudhry, S. I., Harrington, K., Williamson, P., Moeendarbary, E., Charras, G., & Sahai, E. (2013). Mechanotransduction and YAP-dependent matrix remodelling is required for the generation and maintenance of cancer-associated fibroblasts. *Nature Cell Biology*, 15(6), 637–646. doi:10.1038/ncb2756
- Chunduri, V., & Maddi, S. (2022). Role of in vitro two-dimensional (2D) and three-dimensional (3D) cell culture systems for ADME-Tox screening in drug discovery and development: A comprehensive review. *ADMET and DMPK*, 10(3), 223–241. doi:10.5599/admet.1513
- Costa, E. C., Moreira, A. F., de Melo-Diogo, D., Gaspar, V. M., Carvalho, M. P., & Correia, I. J. (2016). 3D tumor spheroids: An overview on the tools and

- techniques used for their analysis. *Biotechnology Advances*, 34(8), 1427–1441. doi:10.1016/j.biotechadv.2016.11.002
- Cukierman, E., Pankov, R., Stevens, D. R., & Yamada, K. M. (2001). Taking cell–matrix adhesions to the third dimension. *Science*, 294(5547), 1708–1712. doi:10.1126/science.1064829
- Desoize, B., & Jardillier, J. (2000). Multicellular resistance: A paradigm for clinical resistance? *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 36(2–3), 193–207. doi:10.1016/s1040-8428(00)00086-x
- Drost, J., & Clevers, H. (2018). Organoids in cancer research. *Nature Reviews Cancer*, 18(7), 407–418. doi:10.1038/s41568-018-0007-6
- Eagle, H. (1959). Amino acid metabolism in mammalian cell cultures. *Science*, 130(3373), 432–437. doi:10.1126/science.130.3373.432
- 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. doi:10.1089/adt.2014.573
- Esch, E. W., Bahinski, A., & Huh, D. (2015). Organs-on-chips at the frontiers of drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 14(4), 248–260. doi:10.1038/nrd4539
- Fatehullah, A., Tan, S. H., & Barker, N. (2016). Organoids as an in vitro model of human development and disease. *Nature Cell Biology*, 18(3), 246–254. doi:10.1038/ncb3312
- Fitzgerald, K. A., Malhotra, M., Curtin, C. M., O'Brien, F. J., & O'Driscoll, C. M. (2015). Life in 3D is never flat: 3D models to optimise drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 215, 39–54. doi:10.1016/j.jconrel.2015.07.020
- Freshney, R. I. (2016). *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications* (7th ed.). Wiley-Blackwell.
- Friedrich, J., Seidel, C., Ebner, R., & Kunz-Schughart, L. A. (2009). Spheroid-based drug screen: Considerations and practical approach. *Nature Protocols*, 4(3), 309–324. doi:10.1038/nprot.2008.226
- Fujii, M., Matano, M., Toshimitsu, K., Takano, A., Mikami, Y., Nishikori, S., Sugimoto, S., & Sato, T. (2018). Human intestinal organoids maintain self-renewal capacity and cellular diversity in niche-inspired culture condition. *Cell Stem Cell*, 23(6), 787–793.e6. doi:10.1016/j.stem.2018.11.016
- Gey, G. O., Coffman, W. D., & Kubicek, M. T. (1952). Tissue culture studies of the proliferative capacity of cervical carcinoma and normal epithelium. *Cancer Research*, 12(4), 264–265.

- Giard, D. J., Aaronson, S. A., Todaro, G. J., Arnstein, P., Kersey, J. H., Dosik, H., & Parks, W. P. (1973). In vitro cultivation of human tumors: Establishment of cell lines derived from a series of solid tumors. *Journal of the National Cancer Institute*, 51(5), 1417–1423. doi:10.1093/jnci/51.5.1417
- Gilkes, D. M., Semenza, G. L., & Wirtz, D. (2014). Hypoxia and the extracellular matrix: Drivers of tumour metastasis. *Nature Reviews Cancer*, 14(6), 430–439. doi:10.1038/nrc3726
- Groll, J., Burdick, J. A., Cho, D. W., Derby, B., Gelinsky, M., Heilshorn, S. C., Jüngst, T., Malda, J., Mironov, V. A., Nakayama, K., Ovsianikov, A., Sun, W., Takeuchi, S., Yoo, J. J., & Woodfield, T. B. F. (2018). A definition of bioinks and their distinction from biomaterial inks. *Biofabrication*, 11(1), 013001. doi:10.1088/1758-5090/aaec52
- Guerrero-López, P., Martín-Pardillos, A., Bonet-Aleta, J., Mosseri, A., Hueso, J. L., Santamaria, J., & Garcia-Aznar, J. M. (2025). 2D versus 3D tumor-on-chip models to study the impact of tumor organization on metabolic patterns in vitro. *Scientific Reports*, 15(1), 1234–1249. doi:10.1038/s41598-025-03504-8
- Harrison, R. G. (1906). Observations on the living developing nerve fiber. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 4(1), 140–143. doi:10.3181/00379727-4-98
- 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. doi:10.1016/j.celrep.2017.09.043
- Hirschhaeuser, F., Menne, H., Dittfeld, C., West, J., Mueller-Klieser, W., & Kunz-Schughart, L. A. (2010). Multicellular tumor spheroids: An underestimated tool is catching up again. *Journal of Biotechnology*, 148(1), 3–15. doi:10.1016/j.jbiotec.2010.01.012
- Hughes, C. S., Postovit, L. M., & Lajoie, G. A. (2010). Matrigel: A complex protein mixture required for optimal growth of cell culture. *Proteomics*, 10(9), 1886–1890. doi:10.1002/pmic.200900758
- Huh, D. D. (2015). A human breathing lung-on-a-chip. *Annals of the American Thoracic Society*, 12(Suppl. 1), S42–S44. doi:10.1513/AnnalsATS.201410-442MG
- Huh, D., Matthews, B. D., Mammoto, A., Montoya-Zavala, M., Hsin, H. Y., & Ingber, D. E. (2010). Reconstituting organ-level lung functions on a chip. *Science*, 328(5986), 1662–1668. doi:10.1126/science.1188302

- Hynes, R. O. (2009). The extracellular matrix: Not just pretty fibrils. *Science*, 326(5957), 1216–1219. doi:10.1126/science.1176009
- Ingber, D. E. (2022). Human organs-on-chips for disease modelling, drug development and personalized medicine. *Nature Reviews Genetics*, 23(8), 467–491. doi:10.1038/s41576-022-00466-9
- Jensen, C., & Teng, Y. (2020). Is it time to start transitioning from 2D to 3D cell culture? *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7, 33. doi:10.3389/fmolb.2020.00033
- Kapałczyńska, 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*, 14(4), 910–919. doi:10.5114/aoms.2016.63743
- Kaur, G., & Dufour, J. M. (2012). Cell lines: Valuable tools or useless artifacts? *Spermatogenesis*, 2(1), 1–5. doi:10.4161/spmg.19885
- Kenny, P. A., Lee, G. Y., Myers, C. A., Neve, R. M., Semeiks, J. R., Spellman, P. T., Lorenz, K., Lee, E. H., Barcellos-Hoff, M. H., Petersen, O. W., Gray, J. W., & Bissell, M. J. (2007). The morphologies of breast cancer cell lines in three-dimensional assays correlate with their profiles of gene expression. *Molecular Oncology*, 1(1), 84–96. doi:10.1016/j.molonc.2007.02.004
- Langer, R., & Vacanti, J. P. (1993). Tissue engineering. *Science*, 260(5110), 920–926. doi:10.1126/science.8493529
- Lavazza, A., & Massimini, M. (2018). Cerebral organoids and consciousness: How far are we willing to go? *Journal of Medical Ethics*, 44(9), 613–614. doi:10.1136/medethics-2018-104976
- Lee, G. Y., Kenny, P. A., Lee, E. H., & Bissell, M. J. (2007). Three-dimensional culture models of normal and malignant breast epithelial cells. *Nature Methods*, 4(4), 359–365. doi:10.1038/nmeth1015
- Li, Y., & Kilian, K. A. (2015). Bridging the gap: From 2D cell culture to 3D microengineered extracellular matrices. *Advanced Healthcare Materials*, 4(18), 2780–2796. doi:10.1002/adhm.201500427
- Liu, X., Fang, J., Huang, S., Wu, X., Xie, X., Wang, J., Liu, F., Zhang, M., Peng, Z., & Hu, N. (2021). Tumor-on-a-chip: From bioinspired design to biomedical application. *Microsystems & Nanoengineering*, 7, 50. doi:10.1038/s41378-021-00277-8
- Lovitt, C. J., Shelper, T. B., & Avery, V. M. (2014). Advanced cell culture techniques for cancer drug discovery. *Biology*, 3(2), 345–367. doi:10.3390/biology3020345

- Marx, U., Andersson, T. B., Bahinski, A., Beilmann, M., Beken, S., Cassee, F. R., Cirit, M., Daneshian, M., Fitzpatrick, S., Frey, O., Gaertner, C., Giese, C., Griffith, L., Hartung, T., Heringa, M. B., Hoeng, J., de Jong, W. H., Kojima, H., Kuehn, J., Leist, M., ... Roth, A. (2016). Biology-inspired microphysiological system approaches to solve the prediction dilemma of substance testing. *ALTEX*, 33(3), 272–321. doi:10.14573/altex.1603161
- Masters, J. R. (2000). Human cancer cell lines: Fact and fantasy. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 1(3), 233–236. doi:10.1038/35043102
- Moro, L. G., Guarnier, L. P., Azevedo, M. F., Fracasso, J. A. R., Lucio, M. A., Castro, M. V., Dias, M. L., Livero, F. A. D. R., & Ribeiro-Paes, J. T. (2024). A brief history of cell culture: From Harrison to organs-on-a-chip. *Cells*, 13(24), 2068. doi:10.3390/cells13242068
- Murphy, S. V., & Atala, A. (2014). 3D bioprinting of tissues and organs. *Nature Biotechnology*, 32(8), 773–785. doi:10.1038/nbt.2958
- Nath, S., & Devi, G. R. (2016). Three-dimensional culture systems in cancer research: Focus on tumor spheroid model. *Pharmacology & Therapeutics*, 163, 94–108. doi:10.1016/j.pharmthera.2016.03.013
- Nunes, A. S., Barros, A. S., Costa, E. C., Moreira, A. F., & Correia, I. J. (2019). 3D tumor spheroids as in vitro models to mimic in vivo human solid tumors resistance to therapeutic drugs. *Biotechnology and Bioengineering*, 116(1), 206–226. doi:10.1002/bit.26845
- Ooft, S. N., Weeber, F., Dijkstra, K. K., McLean, C. M., Kaing, S., van Werkhoven, E., Schipper, L., Hoes, L., Vis, D. J., van de Haar, J., Prevoo, W., Snaebjornsson, P., van der Velden, D., Klein, M., Chalabi, M., Boot, H., van Leerdam, M., Bloemendal, H. J., Beerepoot, L. V., Wessels, L., ... Voest, E. E. (2019). Patient-derived organoids can predict response to chemotherapy in metastatic colorectal cancer patients. *Science Translational Medicine*, 11(513), eaay2574. doi:10.1126/scitranslmed.aay2574
- Pampaloni, F., Reynaud, E. G., & Stelzer, E. H. (2007). The third dimension bridges the gap between cell culture and live tissue. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(10), 839–845. doi:10.1038/nrm2236
- Ravi, M., Paramesh, V., Kaviya, S. R., Anuradha, E., & Solomon, F. D. (2015). 3D cell culture systems: Advantages and applications. *Journal of Cellular Physiology*, 230(1), 16–26. doi:10.1002/jcp.24683
- Sachs, N., de Ligt, J., Kopper, O., Gogola, E., Bounova, G., Weeber, F., Balgobind, A. V., Wind, K., Gracanin, A., Begthel, H., Korving, J., van Boxtel, R., Duarte, A. A., Lelieveld, D., van Hoeck, A., Ernst, R. F., Blokzijl, F., Nijman, I. J., Hoogstraat, M., van de Ven, M., ... Clevers, H. (2018). A living

- biobank of breast cancer organoids captures disease heterogeneity. *Cell*, 172(1–2), 373–386.e10. doi:10.1016/j.cell.2017.11.010
- 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). Elsevier. doi:10.1016/B978-0-12-803077-6.00009-6
- Shannon, M., Capes-Davis, A., Eggington, E., Georgiou, R., Huschtscha, L. I., Moy, E., Power, M., Reddel, R. R., & Arthur, J. W. (2016). Is cell culture a risky business? Risk analysis based on scientist survey data. *International Journal of Cancer*, 138(3), 664–670. doi:10.1002/ijc.29817
- Simitzi, C., Ranella, A., & Stratakis, E. (2017). Controlling the morphology and outgrowth of nerve and neuroglial cells: The effect of surface topography. *Acta Biomaterialia*, 51, 21–52. doi:10.1016/j.actbio.2017.01.023
- Soule, H. D., Vazquez, J., Long, A., Albert, S., & Brennan, M. (1973). A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute*, 51(5), 1409–1416. doi:10.1093/jnci/51.5.1409
- Stern, S., Wang, H., & Sadrieh, N. (2023). Microphysiological models for mechanistic-based prediction of idiosyncratic DILI. *Cells*, 12(11), 1476. doi:10.3390/cells12111476
- Tiriác, H., Belleau, P., Engle, D. D., Plenker, D., Deschênes, A., Somerville, T. D. D., Froeling, F. E. M., Burkhart, R. A., Denroche, R. E., Jang, G. H., Miyabayashi, K., Young, C. M., Patel, H., Ma, M., LaComb, J. F., Palmaira, R. L. D., Javed, A. A., Huynh, J. C., Johnson, M., Arora, K., ... Tuveson, D. A. (2018). Organoid profiling identifies common responders to chemotherapy in pancreatic cancer. *Cancer Discovery*, 8(9), 1112–1129. doi:10.1158/2159-8290.CD-18-0349
- Tuveson, D., & Clevers, H. (2019). Cancer modeling meets human organoid technology. *Science*, 364(6444), 952–955. doi:10.1126/science.aaw6985
- Van de Wetering, M., Francies, H. E., Francis, J. M., Bounova, G., Iorio, F., Pronk, A., van Houdt, W., van Gorp, J., Taylor-Weiner, A., Kester, L., McLaren-Douglas, A., Blokker, J., Jaksani, S., Bartfeld, S., Volckman, R., van Sluis, P., Li, V. S., Seepo, S., Sekhar Pedamallu, C., Cibulskis, K., ... Clevers, H. (2015). Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients. *Cell*, 161(4), 933–945. doi:10.1016/j.cell.2015.03.053
- Vlachogiannis, G., Hedayat, S., Vatsiou, A., Jamin, Y., Fernández-Mateos, J., Khan, K., Lampis, A., Eason, K., Huntingford, I., Burke, R., Rata, M., Koh, D. M., Tunariu, N., Collins, D., Hulkki-Wilson, S., Ragulan, C., Spiteri, I., Moorcraft, S. Y., Chau, I., Rao, S., ... Valeri, N. (2018). Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. *Science*, 359(6378), 920–926. doi:10.1126/science.aao2774

- Weigelt, B., Lo, A. T., Park, C. C., Gray, J. W., & Bissell, M. J. (2010). HER2 signaling pathway activation and response of breast cancer cells to HER2-targeting agents is dependent strongly on the 3D microenvironment. *Breast Cancer Research and Treatment*, 122(1), 35–43. doi:10.1007/s10549-009-0502-2
- Xu, H., Wen, J., Yang, J., Zhou, S., Li, Y., Xu, K., Li, W., & Li, S. (2024). Tumor-microenvironment-on-a-chip: The construction and application. *Cell Communication and Signaling*, 22(1), 515. doi:10.1186/s12964-024-01884-4
- Yamada, K. M., & Cukierman, E. (2007). Modeling tissue morphogenesis and cancer in 3D. *Cell*, 130(4), 601–610. doi:10.1016/j.cell.2007.08.006



BÖLÜM 2

Kanser Biyokimyasına Tarihsel Bakış

Şeker Dağ¹

1. GİRİŞ

Normal ve kötü huylu hücreler arasındaki biyokimyasal farklılıklar hakkında bildiklerimizin çoğu aslında enzimatik aktivite modellerinin keşfiyle ilgilidir. 1920'lerde Otto Warbrug, insan ve hayvan tümörlerinin büyük bir kısmında glikolizi araştırmıştır. Tümör hücrelerinde glikoliz normal hücrelere göre daha fazla oranda meydana geldiği gösterilmiştir. Normal doku hatları oksijen bulunmayan ve glikoz içeren bir besin ortamında inkübe edildiğinde, yüksek oranda laktik asit üretimi kaydedilmiş, ancak O₂ varlığında laktik asit üretimi neredeyse hiç olmamıştır. Oksijensiz bir ortamda tümör hücrelerindeki laktik asit üretimi normal dokulardakinden daha fazladır. Ancak böyle bir ortama oksijen eklendiğinde tümör hücrelerinin laktik asit üretimi oksijensiz ortamın değerinden daha az laktik asit üretimi olmuştur. Ancak bu ortamdan laktik asit tamamen yok olmamıştır. Warbrug, kanser hücrelerindeki solunum mekanizmalarında geri dönüşü olmayan bir hasar olduğunda, O₂ varlığında bile laktik asit üretiminin olduğunu öne sürmektedir. Warbrug, neoplastik dönüşümdeki hayati biyokimyasal lezyonlar kadar bu kalıcı glikoliz türüne de dikkat çekmiştir (Warburg 1930; Potter ve ark., 2016). Tümör çekirdeğinin hipoksik alanlarında anaerobik metabolizmanın baskın olması nedeniyle bu fikir hala kısmi geçerliliğe sahiptir. Bu fikrin klinik etkileri vardır. Çünkü hipoksik hücreler bazı antikanser ilaçlara ve ışın tedavisine iyi yanıt vermeyebilir. Önceleri bu hipoksik alanların sadece tümörün merkezinde var olduğu ve nispeten statik kaldığı ve sonunda nekroza uğradığı düşünülse de, artık bu hipoksik alanların kanlanmasını sağlayan yeni kan damarları oluştuğça bu bölgelerin kaybolduğu bilinmektedir. Bazı ilaçlar ve radyoterapi, hipoksik alanların bu özelliği göz önünde bulundurularak tasarlanmaktadır (Dang, 2008).

Kanser hücrelerinin bu özelliğinin mekanizması, c-myc onkojenik transkripsiyon faktörüne bağlı aerobik glikolize geçişten kaynaklanıyor gibi görünmektedir. Dang ve arkadaşları (2008) c-myc ve hipoksi ile indüklenebilir faktör-1'in (HIF-1) laktat dehidrojenaz A promotör cis-aktif edici elementlerine bağlandığını göstermiştir. Dang ve arkadaşları (2008), glikolitik enzim genlerindeki hipoksi/glikoza duyarlı elementlerin c-myc'yi doğrudan aktive ettiğini ve böylece kanser hücrelerinin aerobik glikolizi sürdürdüğünü öne sürmüştür (Mu ve ark. 2021). 1950'lerin başında Greenstein, kanserin 'yakınsama hipotezini' formüle etmiştir. Bu hipoteze göre, malign tümörlerin enzimatik

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Sivas/Türkiye, Orcid: 0000-0002-8385-7581

aktiviteleri ortak bir hedefe doğru yakınsama eğilimindedir. Bu kurala uymayan bazı tümörler olduğunu fark etmesine rağmen Greenstein, bu kuralı hızlı büyüyen tümör modellerine genellenen mümkün olduğunu söylemiştir (Greenstein,1954). Kanser hücrelerinin çoğunun nükleik asit sentezi de dâhil olmak üzere gelişmiş metabolik yollara sahip olduğu artık bilinmesine rağmen, malign neoplazmlar arasında biyokimyasal heterojenlik belirgindir. Ortak enzimatik değişikliklere sahip çok iyi farklılaşmış kanserler vardır. Bu nedenle, kanserler enzim modellerine dayalı tek bir malign fenotipe sahip değildir.

50 yıldan daha fazla bir süre önce Miller, amino-azo boyalara maruz kalan kişilerde oluşan karaciğer kanseri çalışmalarına dayanarak “delesyon hipotezini” öne sürmüştür. Miller ve arkadaşları tümör büyümesinin, normal hücre büyümesini kontrolü için gerekli proteinlerin kaybı veya kalıcı değişiminden kaynaklandığını öne sürmüşlerdir (Miller ve Miller, 1947). Potter ve arkadaşları ise, hücre bölünmesi için gerekli olan enzim sisteminin geri besleme kontrolünü içeren proteinin karsinogenezde kaybolduğunu belirterek “geri besleme silinmesi” hipotezini öne sürmüşlerdir. Potter bu hipotezinde, hücre çoğalmasında rol alan baskılayıcı genlerin kaybolduğunu veya aktivitelerini kaybetmiş olduklarını belirtmiştir. Bu baskılayıcıların DNA ile etkileşime giren veya baskılayıcı proteinleri doğrudan etkileyen onkojenik ajanlar tarafından inaktive edildiği öne sürülmüştür (Potter et al, 1950). Bu öngörü, 25 yıl sonra p53 ve RB gibi tümör baskılayıcı proteinlerin keşfedilmesiyle geçerliliğini yitirmiştir.

Morris ve arkadaşları tarafından geliştirilen ve minimal sapma hepatomları olarak da adlandırılan kanser hücreleri, onkogenез ile ilgili biyokimyasal çalışmalar için yardımcı olmuştur. Bu tümörleri florenilftalamik asit, florenilasetamid bileşikleri veya trimetilanilin ile beslenen farelerde geliştirmişlerdir. Weinhouse’un (1980) belirttiği gibi tümörlerle ilgili bilgilerimiz ancak malign fenotipin biyokimyasal özelliklerini, normal non-spesifik doku büyümesi veya sekonder doku büyümesi ekarte ettikten sonra şekillenecektir.

Morris (1973) tarafından geliştirilen minimal sapma hepatomlarını geliştiren Weber, kanserde “moleküler korelasyon konseptini” formüle etmiştir. Bu kavrama göre neoplazmdaki genomun biyokimyasal süreci, anahtar enzimlerin derişimleri ve aktivitesi, bunların neoplastik dönüşümü ve ilerlemesi ile bağlantısı açıklanabilir. Weber, malignite ile ilgili 3 genel biyokimyasal değişiklik olduğunu iddia etmiştir; (1)Transformasyonla ilgili değişiklikler. Tüm malign hücrelerde aynı yönde değişiklik göstermeleri muhtemeldir. (2)Tümör büyüme hızı, invazyon ve metastatik potansiyel ile ilgili progresyona bağlı değişiklikler. (3)Dönüşüm veya ilerleme ile kesin olarak bağlantılı olmayan ikincil olaylar (tesadüfi)

Weber, anabolik ve katabolik yollarda yer alan anahtar enzimlerin malign süreçte en çok değişen enzimler olduğunu belirtmiştir. Hızı sınırlamayan veya

tersinir denge reaksiyonlarını düzenlemeyen anahtar olmayan enzimler daha az önem taşımaktadır. Weber ve arkadaşları, malign hücrelerde değişen enzimlerin nükleik asit sentezi ve yıkımında rol oynayan enzimler olduğunu bulmuştur. Genel olarak, pürin ve pirimidin biyosentezinde yer alan anahtar enzimler malign dönüşüm ve tümör büyümesi sırasında artarken, katabolik enzimler azalır. Weber, neoplazi derecesinin anahtar metabolik yolların belirli düzenleyicilerinin derişimleri ile ilişkili olduğunu belirtmiştir (Weber, 1977; Weber, 2007). Knox, anaplastik ve hızlı büyüyen tümörler biyokimyasal olarak aynıyken, iyi farklılaşmış tümörlerde çok çeşitli fenotipler olmasıyla ilgili soruyu yanıtlamaya çalışmıştır. Knox'a göre, tümör dokusunun biyokimyasal bileşenlerini, belirli özelliklere sahip normal hücreler veya farklılaşmanın farklı aşamalarındaki hücreler üretir. Kanser hücrelerinin biyokimyasal farklılıkları, neoplazmanın köken aldığı hücreye ve malignite derecesine bağlı olarak değişir. Histopatolojik veya biyokimyasal karakterizasyonda mevcut olan azalmış veya artmış biyokimyasal bileşenin hücrenin kökeni, farklılaşma durumu ve neoplazinin derecesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Knox ve Brown, 2002).

Özetle kanser hücrelerinin enzim modellerine ilişkin bilgiler; farklılaşmış ve yüksek derecede kötü huylu hücrelerin, gelişmiş benzer normal hücrelere kıyasla, fetal dokulara ve birbirlerine daha fazla benzeme eğiliminde olduğunu göstermiştir. Başka bir deyişle, iyi farklılaşmış tümörler köken aldıkları hücrelere daha çok benzemektedir. Kuşkusuz, neoplastik derecelendirmenin iki uç noktası tümörün geniş biyokimyasal heterojenliğini yansıtmaktadır. Bu heterojenlik aynı doku tipinin farklı hastalarda veya aynı hastalarda hastalığın farklı evrelerinde ortaya çıkan tümörlerinde de görülmektedir.

İnvazyon ve metastaz gibi birçok kanser hücresi özelliği embriyonik dokuda da görülür. Neoplaziyi anlayanın anahtarlarından biri, bu embriyonik süreçlerin ortaya çıkışını neyin düzenlediğini bulmak olabilir. Bu gen ürünlerinin kanser istilası, metastatik ve konak dokunun immünolojik savunma mekanizmalarında neleri içerdiği tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, en azından blastosist implantasyonu sırasında proteazın etkisinin kontrol edildiği, invaziv kanserde ise proteazın düzensiz bir şekilde işlev gördüğü bilinmektedir. Kanser biyolojisinde hala kritik bir soru, malign hücrelerin invaziv ve metastatik özelliklerini neyin düzenlediğidir.

Embriyonik genlerin yeniden ekspresyonu (veya artmış ekspresyonu) sonucunda tümör hücrelerinde, tümör gelişimiyle ilişkili birçok antijen gözlenmiştir. Bunların birçoğu kanser teşhisinde ve hastalığın ilerlemesinde tümör belirteçleri olarak kullanılmaktadır. Bunlar arasında α -fetoprotein (AFP), karsinoembriyonik antijen (CEA) ve birçok uygunsuz (ektopik) üretilen hormon bulunmaktadır.

Plasental bir hormon olan insan koryonik gonadotropik hormonunun (hCG) veya α - veya β -alt birimlerinin üretimi birçok insan kanser hücre hattında ve yumurtalık, idrar yolu veya gastrointestinal (GIS) kanserli hastaların serumunda gözlenmiştir. hCG veya β -alt birimi bazı kanserlerde büyüme faktörü olarak işlev görür. Buna dayanarak, hCG'ye karşı antikörler kullanılarak terapötik yaklaşımlar geliştirilmiştir.

Moleküler biyoloji ve biyoteknoloji, kanser hücrelerindeki genetik anormallikleri tespit eden yeni bilgiler sağlamıştır. Örneğin, bir tümörden elde edilen küçük bir DNA (Deoxyribonucleic acid) veya RNA (Ribonucleic acid) parçasının Polymeraz Zincir Reaksiyon yöntemi kullanılarak bir milyon kez veya daha fazla çoğaltılmasıyla bir tümör baskılayıcı gendeki tek bir baz değişiminin bu genin ifadesini nasıl değiştireceğini incelemek mümkündür. Lazer yakalama mikrodiseksiyon tekniğiyle (LMC) bir dokudan alınan tek bir hücrenin genomik ifadesi görselleştirilebilir (Volker, 2007).

2. Bir Kanser Hücresini Kanserli Yapan Nedir?

2. 1. Kanser Hücrelerindeki Fenotipik Değişiklikler

60 yıldır, in vitro transformasyona uğramış hücrelerin, in vivo kanser gelişimi ile ilişkili fenotipik özelliklerini tanımlamayı amaçlayan çeşitli bilimsel araştırmalar yürütülmektedir. Başlangıçta kültür hücrelerinin kötü huylu fenotipiyle yakından ilişkili olduğu düşünülen birçok biyokimyasal özelliğin, hayvanlarda tümör oluşturan bu hücrelerin özelliklerinden farklı olduğu bulunmuştur. İnsanlarda ve hayvanlarda kötü huylu tümörler geliştiren hücrelerin her biri, hücre yüzeyi bileşimi, enzim seviyeleri, immünojenite ve antikanser ilaçlara yanıt açısından belirgin biyokimyasal heterojenlik göstermektedir. Yakın zamanda Hahn ve arkadaşları, (2007) insan telomeraz katalitik alt birimi (subunit) hTERT'nin onkogen h-ras ve SV 40 virüsü T antijeni ile birlikte ektopik ifadesinin normal insan epitel ve fibroblast hücrelerinde tümörjenik dönüşüme neden olduğunu göstermiştir. Bu gen ürünleri tarafından düzenlenen hücre içi yolların bozulmasının malign hücre oluşumunda rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir.

2.2. Kültür Ortamında Hücrelerin Ölümsüzlüğü

Normal diploid memeli hücrelerinin kültür ortamında sınırlı bir ömrü vardır. Örneğin, normal insan fibroblast hücrelerinin popülasyonu 50-60 kez ikiye katlanır, ancak kendiliğinden dönüşüm gerçekleşmezse, hücre canlılığı hızla azalır. Bununla birlikte, kültürdeki kötü huylu hücreler, uygun besinler ve büyüme faktörleri mevcutsa genellikle sınırsız çoğalma gösterir. Normal diploid hücrelerin yaşam süresini sınırlayan faktörün ne olduğu açık değildir. Ancak hücre bölünmesi ve kromozomal telomerlerin sürekli kısalması ile ilgili olabilir. Telomer uzunluğunu koruyan telomerazın dönüştürülmüş hücrelerde yüksek

seviyelerde bulunduğu bilinmektedir. Kültür ortamındaki dönüştürülmüş hücrelerde, kromozom sayısında artış şeklinde karyotipik değişiklikler sıklıkla meydana gelir. Bu bulgu, bu hücrelerde büyümeyi tetikleyen bazı genlerin arttığını ya da bu hücrelerin pasajlama yoluyla seçildiğini düşündürmektedir.

2.3. Büyüme İnhibisyonunda Yoğunluğa Bağlı Azalma

Epitelin açık bir ucu tolere edemediği uzun zamandır bilinmektedir. Bu nedenle, epitel hücrelerinin serbest uçları çoğalır ve epitel hücreleri başka bir epitel hattının serbest ucuyla temas edene kadar büyüme için elverişli bir ortamda hareket eder. Örneğin, bir amfibi larvasının derisi yaralandığında, epidermis yaralı kenarın açık uçları yaranın merkezinde buluşana kadar göç eder ve ardından epitel uzaması aniden durur. Fibroblastlar da temas reaksiyonuna benzer özelliklere sahiptir (benzer bir temas reaksiyonu cam bir yüzey üzerinde yapılan bir deneyde sıvı bir ortamda civciv kalbi fibroblastlarında gözlenmiştir). Bu hücrelerin iki primer eksplantı (canlı dokudan alınan ve yapay ortamda üretilen doku) 1 mm mesafeye yerleştirildiğinde, her bir eksplantın gelişimi olur. Ta ki hücreler birbirleriyle temas edene kadar, bu noktada hücrelerin gelişimi ve hareketi durur ve hücreler yüzeyde tek bir tabaka oluşturur. Hücrelerin hücre yüzeylerinin karşılıklı teması sonucu başka bir hücrenin inhibisyonuna kontak inhibisyon denir. Birçok kötü huylu dönüşüme uğramış hücre birbirleriyle temas ettiklerinde çoğalmayı durdurmazlar (Popov, et al. 2009).

2.4. Büyüme Faktörleri için Azaltılmış Gereksinim

Normal diploid hücrelerin kültürlerinden elde edilen hücreler ve normal hayvan hücrelerinden yeni izole edilen çoğu hücre, yarı katı bir agar jel üzerinde veya bir sıvı içinde tutulduğunda yeterince büyümmez. Bu tür büyüme, fiksasyon bölgesine bağlı büyüme olarak adlandırılır. Onkogenik ajanlarla dönüştürülen veya tümörlerden türetilen hücrelerin çoğu yarı katı ortamlarda (metilselüloz, selüloz veya agaroz) veya kültür süspansiyonlarında yüzeye bağlanmadan çoğalabilir. Bu, bölgeden bağımsız büyüme olarak adlandırılır. Bu teknik, normal ve kötü huylu hücrelerin büyüme özelliklerini karşılaştırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu tekniğin bir diğer avantajı, insan tümörlerinden türetilen kanser hücrelerinin büyüme özelliklerini yumuşak agarda çoğalabilen kötü huylu hücrelerin özelliklerinden ayırt ederek, potansiyel yeni antikanser ilaçları için kemoterapötik ajanlara karşı duyarlılıklarının ve kanser taramasında test edilebilmesidir.

2. 5. Hücre Döngüsü Kontrolünün Kaybı ve Apoptoza Direnc

Normal hücreler, elverişsiz büyüme koşullarına yanıt olarak hücre çoğalma döngüsünün sakın bir fazına girer ve G0'da kalır. Hücre döngüsünün G1 fazında, hücreler bir kararlılık noktasına ulaştığında, DNA sentezi adımı olan S fazına girerler veya G1 fazında dururlar ve hücre replikasyonu için daha uygun koşulları

beklerler. Eğer bu bekleme süresi uzarsa hücreler G0 fazındadır. Eğer hücreler çoğalma yönünde ise G1 fazına dönmek için S, G2 ve M fazlarından geçmeleri gerekir. Eğer hücreler S, G2 veya M fazında uzun süre bloke olurlarsa ölürlür. Hücre döngüsünü düzenleyen bu olaylara hücre döngüsü kontrol noktaları denir. Bu hücre döngüsü kontrol noktalarının kanser hücreleri tarafından kontrolünün kaybedilmesi, kanser hücrelerinin antikanser ilaçlara karşı duyarlılığının artmasına katkıda bulunabilir. Bu “kontrol noktası” kontrol mekanizmaları sayesinde, normal hücreler kendilerini toksik ajanlardan veya çoğalmalarını sınırlandıran koşullardan koruyacak mekanizmalara sahiptir. Öte yandan, kanser hücreleri hücre döngüsü evrelerinin kontrol noktalarına ilerleyerek hücreleri ışınlama veya ilaçların sitotoksik etkilerine karşı daha duyarlı hale getirebilir. Örneğin, normal hücrelerde UV veya X ışınlanması nedeniyle DNA hasarı geliştiğinde, hücreler G1 fazında tutuklanır. Böylece hasarlı DNA, DNA replikasyonundan önce onarılır. G2 fazındaki bir diğer kontrol mekanizması ise mitozdaki kromozomal ayrışmadan önce kromozom kırılmasının tamirine izin vermektir. Kanser hücrelerinde, bu kontrol noktalarının yokluğu veya kontrolünün azalması nedeniyle hasarlı DNA replike olur ve böylece kalıcı ve artan mutasyonlar gözlenir.

2. 6. Hücre Zarı Yapısı ve İşlevindeki Değişiklikler

Hücre membranı hücrelerin sosyal davranışlarında, yani diğer hücrelerle iletişim, hücre hareketi ve göçü, diğer hücrelere ve yapılara yapışma, mikroçevredeki besin maddelerini kullanma yeteneği ve vücudun bağışıklık sistemi tarafından tanınmasında önemli bir rol oynar. Malign hücrelerin plazma membranındaki değişiklikler, yoğunluğa bağlı büyüme inhibisyonunun kaybı, bağlanma bölgesine bağlanma kaybı, normal doku bariyerleri boyunca invazyon gibi büyümelerini ve davranışlarını karakterize eden birkaç farklı özellikten kaynaklanmaktadır. Ayrıca, malign hücre yüzeylerinin biyokimyasal özelliklerinde de birçok değişiklik gözlenmektedir. Bunlar arasında yeni yüzey antijenlerinin, proteoglikanların, glikolipidlerin ve müsinlerin ortaya çıkması ve hücre-hücre ve hücre dışı matriks iletişimindeki değişiklikler yer alır.

2.7. Dönüştürülmüş Hücrelerin Aglutine Edilebilirliği

Transforme olmuş hücrelerin plazma membranının tanımlayıcı özelliklerinden biri, buğday tohumu aglutinin (WGA) concanavalin A ve fitohemaglutinin gibi lektinler tarafından plazma membranı aglutinasyonunun artmasıdır. Seçmek anlamına gelen Latince lectus kelimesinden gelen lektinler, genellikle bitkilerden elde edilen glikoproteinlerdir. Ancak, bakteri, mantar, balık, salyangoz ve insan hücreleri de dâhil olmak üzere memelilerde de bulunurlar. Lektinler özellikle bazı karbonhidratlara bağlanır. Bu nedenle, normal ve dönüştürülmüş hücrelerin hücre yüzey membranlarının glikoprotein ve glikolipid bileşimi ve konfigürasyonunun yanı sıra hücre aglutine edilebilirliğini

belirlemek için bir prob olarak kullanılırlar. Kanser hücreleri ile lektin bağlanması, metastatik potansiyel de dâhil olmak üzere kanser hücrelerinin farklı malign özelliklerini ayırt etmede de yararlıdır (Mazalovska ve Kouokam, 2020).

2.8. Hücre Yüzeyindeki Glikolipidler, Glikoproteinler, Proteoglikanlar ve Müsinlerdeki Değişiklikler

İnsan adenokarsinomlarında laktofukopentoz-III-seramid, laktofukopentoz-II-seramid (Lewis A kan grubu glikolipidleri) ve laktodifukoheksoz ve laktodifukooktoz seramid (Lewis B kan grubu glikolipidleri) gibi fukoz içeren glikolipidlerin dikkat çekici şekilde birikmesi, tümörle ilişkili glikolipid belirleyicilerinin altında atipik glikolizasyonun yattığını göstermektedir. Bu tespitler, spesifik antijenlere karşı oluşturulan monoklonal antikolar kullanılarak güvenilir bir şekilde yapılmıştır. Lex, Lea, Leb veya bunların analogları gibi normal hücrelerden ziyade tümör hücreleriyle reaksiyona giren birçok monoklonal antikordur. Lewis kan grupları ile reaksiyona girdikleri gösterilmiştir. Glikoproteinlerin biyokimyasal karakterizasyonu veya atipik glikolizasyonu da önceki çalışmalarda gösterilmiştir. İlk çalışmalar, dönüştürülmüş hücrelerde farklı glikolizasyon modellerine sahip yüksek moleküler ağırlıklı glikoproteinlerin varlığını göstermiştir. Daha sonraki çalışmalarda, tümör hücresinin glikoproteinlerindeki bazı değişikliklerin kimyasal yapısı, normal hücrelerden elde edilen oligosakkaritlere kıyasla daha çok katmanlı bir yapıya sahip olan tümör hücrelerinin N-bağlı oligosakkarit içeriğine göre gruplandırılmıştır.

Tümör hücrelerinde farklı glikolizasyon modellerini açıklayabilecek çeşitli kimyasal değişikliklerin meydana geldiği gösterilmiştir. Bunlar 3 tip farklı süreçten kaynaklanmaktadır. (1) normalde mevcut olan karbonhidrat zincirlerinin eksik sentezi ve/veya bu karbonhidrat zincirlerinin işlenmesi, bunun sonucunda öncü formların birikmesi. (2) normal hücrelerde bulunmayan veya düşük aktiviteye sahip olan glikozil transferazın aktivasyonundan kaynaklanan neosentez. (3) tümör hücresi membran glikolipidlerinin organizasyonunun yeniden düzenlenmesi. Membranla ilişkili ve salgılanan glikoproteinlerin glikolipid ve karbonhidrat bileşenlerinde de benzer değişiklikler görülür (Ornft ve Vestergaard, 1999).

2.8.1. Oligosakkarit İşleme Enzimleri ve Glikozil Transferazın Rolü

Kan grubuyla ilişkili yapılara ilave karbonhidrat parçalarının eklenmesi, kanser hücrelerinde sadece glikolipidlerin veya glikoproteinlerin atipik bir modifikasyonu değildir. Asparajine bağlı oligosakkaritlerin dallanmasının artması ve bu oligosakkaritlerin eksik işlenmesi, bazı hücre yüzeylerinin yanı sıra salgı glikoproteinlerinde de görülür. Tümör hücrelerinde spesifik asetilglukozaminil transferaz aktivitesinin artması, üç veya dört reseptörlü

yapıların ortaya çıkmasından sorumluyken, normal hücrelerde glikoprotein analogları genellikle bir reseptörlüdür. İnsan koriokarsinom hücre hatlarında N-asetilglukozaminil transferaz IVA'nın alışılmadık derecede yüksek ekspresyonu, hCG'de anormal biantennary şeker zincirlerinin oluşumu için enzimatik bir temel olabilir. Benzer şekilde, membran glikoproteinlerinin ve glikolipidlerin ekstra fukozilasyonu, kimyasal karsinojenle indüklenen prekanseröz sıçan karaciğeri ve hepatomalarında α -fukoziltransferazın olağandışı indüksiyonu ile ilişkilendirilmiştir. Metastatik insan kolon karsinomu hücre hatlarındaki yüksek sialiltransferaz aktivitesi seviyeleri, adezyon moleküllerinin artan sializasyonunun tümör hücrelerinin uzak doku bölgelerine implantasyonuna yardımcı olabileceğini düşündürmektedir. Tüm bu bilgiler, normal hücrelerin kötü huylu hücrelere dönüşümü sırasında glikolizasyon modellerinde değişiklikler meydana geldiğini güçlü bir şekilde desteklemektedir. Hücre-hücre etkileşimi, hücre dışı matrikse yapışma, hücre çoğalmasının düzenlenmesi ve konakçı bağışıklık sistemi tarafından tanınması tamamen hücre yüzey bileşiminden etkilendiğinden, bir hücrenin tüm sosyal davranışı bu tür değişikliklerle değiştirilebilir.

Hücre yüzeyi glikoproteinlerinin ve glikolipidlerin glikolizasyon modellerinin malign fenotipteki önemine dair daha fazla kanıt, glikolizasyon inhibitörlerinin ve oligosakkarit işleme inhibitörlerinin kullanılmasıyla sağlanmıştır. Bu sonuçlar, malign fenotipin çok dalı kompleks tip oligosakkaritlerin senteziyle ilişkili olduğu hipotezini desteklemektedir (Sisinni ve Landriscina, 2015).

2. 8. 2. Müsinler

Müsinler, çeşitli salgı epitel hücreleri tarafından üretilen yüksek oranda glikolize olmuş bir glikoprotein türüdür. %50-80 oranında karbonhidrat içeren müsinler, duktal epitel hücrelerini koruma ve kayganlaştırma işlevine sahiptir. Müsinler, üretildikleri doku tipine bağlı olarak çeşitli uzunluk ve yapılar da O-bağlı glikanlar (serin ve treonin-bağlı) içerir. Müsinler gastrointestinal sistem, akciğer, meme, pankreas ve yumurtalıklar dâhil olmak üzere çeşitli dokularda yapılır ve bu organlardan gelişen tümörler farklı glikozilasyon paternleri ile normal müsinlerden ve immünojenik olanlardan ayırt edilir. Muc1 ve muc2 gibi isimlerle birkaç gen çekirdek proteini klonlanmıştır. Muc1 gen çekirdek proteini bir transmembran alana ve ardışık olarak tekrarlanan 20 amino asitten oluşan büyük bir hücre dışı alana sahiptir. Bu ardışık tekrarların sayısındaki varyasyonlar (30-100) çekirdek proteinlerde görülen polimorfizmden sorumlu olabilir. Müsinin total ekspresyonu birçok kanserde artmıştır. Müsin ekspresyonu, farklı fizyolojik koşullar altında bazı normal dokularda (örn. emziren meme) yukarı doğru düzenlenir. Muc1'in artmış ifadesi en yaygın olarak meme, akciğer, mide, pankreas, prostat ve yumurtalık adenokarsinomlarında görülür. En yaygın olarak muc1 olarak kodlanan müsin kapsamlı bir şekilde

incelenmiş olsa da, diğer mûsinlerin kanserle ilişkili değışiklikleri de incelenmiştir. Ayrıca, normal ve kanser hücrelerinin bir kısmında birden fazla mûsinin ifade edilebildiğı görölmektedir. Çeşitli adenokarsinomlarda muc2 ve muc3'ün fokal atipik ekspresyonu sıklıkla görölmektedir. Bununla birlikte, genel olarak, mûsin genleri bağımsız olarak düzenlenir ve ekspresyonları organ ve hücre tipine özgüdür. Meme kanseri hastalarından izole edilen sitotoksik T lenfositleri, bir mûsin epitopu ifade eden meme kanseri hücreleri tarafından tanınır ve meme kanseri mûsininin konakçı bağışıklık sistemi tarafından tanındığına dair kanıt sağlar. İmmünolojik olarak bilinen epitoplar bir çekirdek protein içerir ve meme, yumurtalık ve diğer karsinomlarda seçici olarak bulunur. Bu hastaların kanser mûsinine karşı antikor üretebildikleri de gösterilmiştir. Buna dayanarak bir tümör aşısı yapılabilir. Mûsin türevi aşının klinik denemeleri devam etmektedir. Tümör hücrelerinden türetilen bazı mûsin antijenleri pankreas, yumurtalık, meme ve kolon kanserli hastalarda tespit edilebilmektedir. Bunlar arasında CA19-9, CA125, CA15-3, Span-1 ve tümör belirteci olarak da kullanılabilen DuPan-2 bulunmaktadır (Nicolini ve ark., 2015).

2. 8. 3. Proteoglikanlar

Yüksek molekül ağırlıklı glikoproteinler olan proteoglikanlar, bir protein çekirdeğine kovalent olarak bağlanmış sülfatlı glikozaminoglikanlara ek olarak N-bağı ve/veya O-bağı oligosakkarit yan zincirlere sahiptir. İçerdikleri çeşitli glikozaminoglikan (GAG) türlerine göre heparan sülfat, kondroitin sülfat, dermatan sülfat, keratan sülfat olarak sınıflandırılırlar. GAG'lar, bir Genel GAG bağlayıcı bölge aracılığıyla bir çekirdek proteine bağlanan farklı tekrarlayan disakkaritlere sahiptir.

Proteoglikanlar, çoklu bağlanma alanları aracılığıyla diğer birçok yapısal makromolekül ile etkileşime girer. Proteoglikanlar, hücre dışı matris (ECM) bileşenleri olan hyaluronik asit, kolajen, laminin ve fibronektini birbirine bağlar ve hücrelerdeki büyüme reseptörleri üzerinde büyüme faktörleri olarak ve ECM'ye hücre bağlanmasına aracılık etmek için bir büyüme faktörleri rezervuarı olarak etki eder. Proteoglikanlar ayrıca hücrelerin hücre iskeleti yapısındaki aktin filamentlerini daha fazla organize ederek bir hücre adezyon faktörü olarak da hareket eder. Proteoglikanlar malign transformasyon sırasında hem kantitatif hem de kalitatif değışikliklere uğrar.

Her iki uçta da var olduğı düşünölen tümör baskılayıcı genler glikozil transferazlardır ve proteoglikan heparan sülfatın biyosentezi için gereklidir. Bu genlerin ext1 ve ext2 olarak adlandırılan mutasyonları, iskelet displazilerinin gelişimi ile ilişkilidir. Heparan sülfat üretiminin düzensizliğinde rol oynayan heparan sülfat öncüsü polisakkaritin sentezinde ve tümör oluşumundaki işlevinde değışiklikler olduğı öne sürölmüştür (Ahrens ve ark. 2020; Dituri ve ark., 2022).

2. 9. Ekstraselüler Matriks Bileşenlerinin Modifikasyonu

ECM, hücresel proliferasyon ve farklılaşmanın düzenlenmesinde kilit bir rol oynamaktadır. Tümör vakalarında, mezenkimal stroma ile etkileşimin ve bir kan kaynağının gelişiminin, tümör büyümesi, invaziv özellikler ve metastatik potansiyel için tümör hücrelerinin büyümesini etkilediği artık bilinmektedir. Bu destekleyici stromal yapı, tümör ve konak mezenkimal hücreler ve vaskülatür arasındaki etkileşimlerle sürekli olarak yeniden modellenmektedir.

ECM bileşenleri kolajen, proteoglikanlar ve fibronektin, laminin ve entaktin gibi glikoproteinleri içerir. ECM, integrin adı verilen hücresel reseptörlere bağlı olarak hücresel bağlanmanın düzenleyicisi olarak rol oynar. Epitel hücreleri arasında da “çapraz konuşma” vardır ve ECM'ler büyüme faktörleri ve diğer düzenleyici moleküller için uygun sinyalizasyon için bir mikro ortam yaratmada rol oynar. Ekzojen olarak yeniden oluşturulan bazal membran meme hücreleri, hepatositler, endotel hücreleri, akciğer alveolar hücreleri, uterus epitel hücreleri, sertoli hücreleri ve schwan hücreleri dahil olmak üzere farklı hücre tiplerinin spesifik farklılaşmasını uyarır.

Tümör hücreleri tarafından salınan proteazlar, glikozidazlar ve kolajenazlar gibi matriksin bileşenlerinin bozulması sonucunda bazal membran bariyeri aşılabılır. Böylece tümör hücreleri doku bariyerlerini ve kan damarları ile lenf kanallarının duvarlarını tamamen istila eder. Buna ek olarak, kötü huylu hücrelerin kendileri de matrisin belirli bileşenleri için reseptörler üretebilir ve/veya içerebilir. Malign hücrelerin bu özelliği vasküler endotele bağlanmalarını sağlar ve metastazlarıyla ilgili olabilir. Ayrıca, tümör hücreleri tarafından salgılanan polipeptit faktörler mezenkimal hücreler tarafından üretilen proteoglikan türünü modüle edebilir.

2. 10. Hücre- Ekstraselüler Matriks ve Hücre-Hücre Yapışması

Dokulardaki hücreler diğer hücrelerle ve ECM ile bağlantılıdır. Bu yapışma olaylarının bozulması, hücre hareketliliğinin artmasına ve hücrelerin ECM'ye potansiyel olarak invazyonuna yol açar. Buna ek olarak, çoğu hücre tipinin normal büyüme, farklılaşma ve işlev için ECM ile ilişkili olması gerekir. Normal hücrelerin ECM'ye yapışmasındaki bir kesinti apoptoza yol açarken, tümör hücrelerinde bu yapışma daha zayıftır ve tümör hücrelerinin çoğalmasına ve dokuları istila etmesine izin verir. ECM'ye hücre yapışmasına integrin adı verilen hücre yüzeyi reseptörleri aracılık eder. Bir $\alpha\beta$ -heterodimer protein ailesi olan integrinler, ECM'ye bağlanmalarında rol oynayan spesifik arginin, glisin ve aspartik asit amino asitlerine sahip integral membran proteinleridir. İntegrinler, hücre içi aktin hücre iskelet yapısına ek olarak, dış ECM hücre iskelet yapısına da bağlanırlar. Bu şekilde, hücre çekirdeğindeki gen ifadesini kontrol etmek için bir bağlantı bağı sağlanır. Bu nedenle, hücre-ECM etkileşimi hücre farklılaşması

ve işlevinde yer alan genlerin ortadan kaldırılmasını kontrol edebilir. Hücre-ECM etkileşimi, ECM'ye bağlı integrin kümelerinin oluşumuyla sonuçlanan fokal adezyonlar aracılığıyla gerçekleşir. Böylece, aktin fibrilleri ve hücredeki sinyal iletim mekanizmaları bağlantılıdır. Fokal adenozin kinaz (FAK) yolakları, raf-raf-mitojen-aktive kinaz, protein kinaz C ve fosfatidilinositol-3-kinaz yolakları gibi büyüme faktörü sinyal yolakları dâhil olmak üzere sinyal iletim yolakları adezyonun kontrolünde rol oynar. Böylece, integrinler mitojenik sinyalizasyonda büyüme faktörleri ile işbirliği yapar.

Ayrıca, hücre-hücre etkileşimleri, hücre çoğalması ve farklılaşmasının normal düzenlenmesi için önemlidir. Bu etkileşimlere hücre adezyon molekülleri (CAM'ler) adı verilen bir molekül ailesi aracılık eder. Gelişim sırasında CAM'lerin ifadesi, hücreler için konum ve göç bilgisi sağlamak üzere programlanır. Birçok CAM ailesi tanımlanmıştır. Kadherinler olarak adlandırılan bir grup, hücre-hücre temasının başlatılması ve stabilizasyonunda önemli bir rol oynayan Ca^{++} iyonuna bağlı transmembran glikoproteinlerin bir üst ailesini içerir. Hücre-hücre yapışmasının kadherin aracılı düzenlenmesi, normal doku farklılaşmasının ve embriyonik gelişimin sürdürülmesi için önemlidir.

Farklı kadherinlerin hücre dışı alanları hücre-hücre homotipik bağlanmasından sorumludur ve katenin adı verilen sitoplazmik proteinlerin sitoplazmik alanları ile etkileşime girer. Her bir kadherin molekülü ya β -katenin ya da γ -katenin bağlayabilir. Daha sonra α -katenin'e bağlanırlar. α -katenin, kadherin kompleksi tarafından aktin hücre iskeletine bağlanır. Hücre hatlarında α -katenin eksikliği normal hücre-hücre yapışkanlığını azaltır ve tümör hücrelerinde aşağı (down) regüle α -katenin invazivliğin artmasına neden olur.

Epitel dokusunda ifade edilen kadherin türü E-cadherin'dir. İnsan kanserlerinde E-cadherin'in işlevinde ve ifadesinde değişiklikler tespit edilmiştir. Ayrıca, kanser hastalarında E-cadherin'in aşağı regülasyonu, artan invazivlik, metastaz ve kötü prognoz ile ilişkilidir (Li ve ark., 2024).

2. 11. Litik Enzimlerin Üretimi

Malign hücreler ve kültürde dönüştürülen insan kanser hücreleri in vivo olarak litik enzimler üretir. Bunlar ECM'yi bozar ve kanser hücrelerinin dokulara, lenfatik kanala ve damar sistemine göç etmesine yol açar. Bu proteazlar plazminojen aktivatörü, katepsinler ve matriks metaloproteazları içerir. Geniş bir proteaz ailesi olan metaloproteazlar, kolajenazlar ve stromelysinlerden oluşur. Kolajenazlar melanom, kolon, meme, akciğer ve prostat kanserlerinde yüksek seviyelerde bulunur. Genel olarak, bu yüksek seviyeler daha yüksek tümör derecesi ve invazivlik ile ilişkilidir. Metalloproteaz II seviyeleri metastatik akciğer kökenli hastaların serumunda önemli ölçüde yükselir ve bu durum kemoterapiye yanıtı azaltır (McMahon ve Kwaan, 2015).

3. Kanser Hücrelerindeki Genetik Değişiklikler

Kanserin genetik bir hastalık olduğunu söylemek gerekir. Bunun nedeni, tüm kanser hücrelerinin gen ifadesinde bazı değişiklikler olmasıdır. Bu genetik değişiklikler arasında kromozomal translokasyonlar ve inversiyonlar, gen delesyonları, gen amplifikasyonları, nokta mutasyonları ve duplikasyonlar veya kromozomal kayıplar yer alır. Kanserdeki genetik değişiklikler hakkındaki bilgilerimizin çoğu lösemi ve lenfoma çalışmalarından gelmektedir. Bunun nedeni, bu hücrelerin saf popülasyonlarını tespit etmenin nispeten kolay olmasıdır. Bununla birlikte, gen delesyonları (örn. tümör baskılayıcı gen işlevinin kaybı) ve onkogen aktivasyonu (örn. k-ras mutasyonları) gibi genel fenomenler de dâhil olmak üzere, solid tümörlerdeki genetik değişiklikler hakkında da çok önemli bilgiler vardır.

3.1. Kromatin Yapısı ve İşlevindeki Değişiklikler

Kromatin yapısı ve işlevinin kontrolü, malign transformasyonda meydana gelen gen ekspresyonu ve hücre farklılaşmasındaki değişikliklerin açıklanmasında kilit rol oynar. Histonların asetilasyonu ve deasetilasyonu ile ilgili bir dizi gen tanımlanmıştır. Asetilasyon genleri iki kategoriye ayrılır. Line1 ve line2.

Asetilasyona ek olarak, histonların fosforilasyonu da kromatin yapısı ve işlevi için önemlidir. H1'in fosforilasyonunun gen transkripsiyonunun artmasında rol oynadığı düşünülmektedir. Öte yandan, mitoz sırasında uygun kromozom yoğunlaşması ve ayrışması için H3'ün fosforilasyonu gereklidir. Ayrıca, memeli hücrelerinin mitojenlere karşı ilk tepkisinde H3 histon, Rsk-2 adı verilen bir kinaz tarafından hızlı ve geçici olarak fosforile edilir. Bu nedenle, gen ifadesinde yer alan mitojenle aktive olan protein kinazla düzenlenen gen ifadesi kaskadlarının bir kısmının kromatin yeniden şekillenmesini içerdiği öne sürülmüştür (Spencer ve Davie, 2000).

3. 2. DNA Metilasyonu

Genelde hipermetil DNA az ekspresedir. Hipometil DNA daha çok eksprese olmaktadır. Tümör hücre dizileri, hayvan tümör modelleri ve primer insan kanserlerinde DNA metilasyon paternlerinde değişiklikler gözlenmektedir. Kolon adenomaları ve adenokarsinomalarında yapılan bir çalışmada genomik 5-metil sitozin içeriğinde ortalama %8-10'luk bir azalma olduğu belirlenmiştir. İlginç olarak bunların normal kolonlarda en yüksek 5-metil sitozin içerikli 3 hastanın kansere bir germ hattı predispozisyon (Lynch Sendromu) oluşturduğu görülmüştür (Feinberg, 2019).

DNA hipermetilasyonunun tümör baskılayıcı gen fonksiyon kaybı ile ilişkili olduğu varsayılmaktadır. p15, p16, E-cadherin, vhl ve hmlh 1 ile ilgili bazı

genlerin düzenleyici dizilerinin hipermetilasyonu da gözlenmiştir. DNA metil transferaz aktivitesi insan kanser hücre hatları ve dokularında aşırı eksprese edilebilir.

3. 3. Heterozigotluk Kaybı

Genetik materyalin silinmesi insan kanserinde çok yaygın bir olaydır. Gerçektende, solid tümörlerde en sık görülen genetik kusurdur. Bu delesyon olayları sıklıkla bir genin maternal ya da paternal alellerinin ekspresyonundaki heterozigotluk kaybıyla (LOH) ilişkilidir. Günümüzde insan solid tümörlerinin çoğunda, genomun %20'sinden fazlasında LOH söz konusu olabilmektedir. Kalıtsal kanserlerde sıklıkla LOH'a neden olan genler, spontan kanserlerde de LOH'a neden olabilir (Wang ve ark., 2022; Sehgal ve Chaturvedi, 2023).

3. 4. Telomerler ve Telomeraz

Yüksek ökaryotik organizmaların hücreleri, telomeraz adı verilen bir enzim kompleksinin aktivitesi ile telomer uzunluğunu korur. Bu enzim, çeşitli proteinler ve RNA içeren bir ribonükleoprotein kompleksidir. Bu kompleksin katalitik bileşeni bir ters transkriptaz olan insan telomeraz ters transkriptazıdır (hTERT). Bu kompleksteki RNA içeriği, telomerlerde DNA dizilerini çoğaltmak üzere ters transkripsiyon için kullanılır. Germ hücreleri ve pluripotent doku kök hücreleri telomeraz aktivitesine sahiptir. Ancak burada telomeraz, farklılaşmış doku hücrelerinde olduğu gibi işlevsizdir. İnsan kanserlerinin çoğunda telomeraz aktivitesi yeniden aktive olur. Bu nedenle proliferatif kapasitede bir artış olur. Telomerazın bu özelliği, telomerazı kansere tanı ve tedavi yaklaşımında güçlü bir hedef haline getirmektedir (Shay ve Wright, 2011).

3. 5. DNA Onarımı

Hücre DNA'sı iç metabolik olaylar (örneğin oksidatif stres, sitozin deaminasyonu) veya dış etkenler (kimyasal karsinojenler, ışınlama) nedeniyle hasar gördüğünde, hücrelerde birçok biyokimyasal mekanizma uyarılır. Bu onarım mekanizmaları şunları içerir: (1) UV ile indüklenen pirimidin dimerlerinin fotoaktivasyon onarımı. (2) DNA ipliğinin uzunluğunun onarımı ve eksizyon için sarmal kırılmasının onarımı. (3) DNA'da apuridik veya aprimidinik bölgeler oluşturan bazeksizyon onarımı. (4) Nükleotid eksizyon onarımı. (5) O⁶-alkiguanin-DNA alkiltransferaz tarafından DNA'dan küçük alkil eklentilerinin tanınması ve uzaklaştırılması.

DNA onarımı genellikle tamdır, ancak DNA replikasyonu sırasında veya öncesinde replikasyon yokluğunda, potansiyel olarak mutajenik ve karsinojenik olaylara yol açabilecek hatalı pozisyonlar olabilir. DNA onarım sistemindeki kalıtsal kusurlar kanser oluşumuna yatkınlık yaratır. Bu sendromlar arasında

kseroderma pigmentozum, ataksi telenjenktazi, fabconi anemisi, bloom sendromu ve cökayne sendromu yer almaktadır (Huang and Zhou, 2021).

4. Kanserde Hücresel Yapı Değişiklikleri

4. 1. Farklılaşmanın Tersine Çevrilebilirliği

Malign neoplastik dönüşümün normal yetişkin hücrelerin yeniden farklılaşmasından mı yoksa kanserin kaynaklandığı organlardaki normal yetişkin hücrelere kıyasla dokularda yeterli olgunluğa ulaşmamış kök hücrelerden mi kaynaklandığı sorusu tartışılmaktadır. Bununla birlikte, malign neoplastik dönüşümün yalnızca bölünme yeteneğine sahip hücrelerde meydana gelebileceği konusunda hemfikirdirler. Bu nedenle, ne beyin tümörlerinin olgun nöronlardan ne de lösemik hücrelerin farklılaşmış polimorf nükleer lökositlerden gelişmesi muhtemeldir. Bunların çoğu muhtemelen onkojenik ajanlardan etkilenen dokulardaki bölünen kök hücrelerdir. Ancak bazı dokulardaki kök hücre popülasyonunu belirlemek zordur.

4. 2. Kanser Hücrelerinde Farklılaşmanın İndüklenmesi

Kültürdeki insan kanser hücreleri veya kötü huylu tümörler belirli farklılaşmayı indükleyen ajanlarla tedavi edildiğinde kötü huylu fenotiplerin kaybının indüklenebileceğine dair birçok örnek vardır. Heksametilbisasetamid, sodyum bütirat, retinoik asit ve sodyum bütirat, vitD3, florbol esterler veya retinoik asit analogları ile kültürdeki insan akut promyelositik lösemi hücrelerinin farklılaşmasını uyarır (indükler).

Hücresel farklılaşmanın indüklenmesi yoluyla kanserin tedavi edilebileceği fikri büyüleyici bir fikirdir. Çünkü tedavi hedef hücreye özel olacaktır. Standart kemoterapötik ajanlardan daha az toksik etkiye sahip olması muhtemeldir. Bunun en iyi örneği retinoik asit kullanan hastalarda akut promyelositik lösemi tedavisidir. Daha yeni bir örnek, liposarkomlu hastalarda retinoid X reseptörü (RXR) ile heterodimerik bir kompleks oluşturan bir nükleer reseptör olan peroksizom proliferatörle aktive olan reseptör- γ 'dır (PPAR- γ) (Hoang ve ark., 2023).

5. Sinyal İletim Mekanizmalarındaki Değişiklikler

Büyüme faktörleri, sitokinler, hormonlar ve eksojen kimyasallar, reseptör aracılı olaylar yoluyla hücresel bir yanıtı tetikler ve sonuçta hücresel proliferasyon ve/veya farklılaşmaya yol açar. Bazen bu faktörler birlikte hareket edebilir. Hücre içi sinyal yollarını değiştirebilir veya karmaşık hale getirebilirler. Bu yollar genellikle kanser hücrelerinde bir büyüme faktörünü, bir büyüme faktörü reseptörünü veya hücre içi sinyal yolunun bir kısmını kodlayan bir onkogenin uygunsuz bir şekilde ifade edilmesiyle uygunsuz bir şekilde aktive edilir. Sinyal yolunun bir bileşeninin inhibisyonu, hücrelerdeki başka bir yolun

yukarı (up) regülasyonu ile telafi edilebilir. Bunun önemli klinik sonuçları vardır. Çünkü bir ilaç belirli bir yolun bileşenlerini bloke ederken, paralel olarak diğer yolların aktivasyonu bazı kemoterapötik ajanlara karşı direnç gelişmesine yol açar.

GTP-bağlayıcı protein (G-Protein) sinyalizasyon olayları gen aktivasyonu için başka bir yoldur. Bunlardan bazılarında cAMP aracılık eder. G-proteini ile aktive olan yolların bileşenlerinin mutasyonlarının, tümör oluşumu da dâhil olmak üzere birçok insan hastalığında rol oynadığı görülmektedir.

Buna ek olarak, diğer sinyal yollarındaki değişiklikler de malign transformasyonla ilişkilidir. Örneğin, viral onkogen v-fps tarafından indüklenen hücresel dönüşüm olayları endojen STAT sinyal yolunun aktivasyonu ile ilişkilidir. TGF- β sinyalizasyonuna SMAD ailesi transdüser proteinleri aracılık eder.

Ras, myc, src ve erb B gibi onkogenler de kanserdeki sinyal bileşenlerini değiştirebilir. Bu nedenle, insan kanserinde sıklıkla gözlenen sinyal yolağı kusurlarının aydınlatılmasıyla, terapötik araçlar için bir hedef haline gelirler (Knox ve Brown, 2002; Gürsel Ürün ve ark, 2023; Lloyd ve ark, 2025).

5. 1. Fosforilasyon ve Deposforilasyon Olayları

Birçok sinyal iletimi olayı fosforilasyon adımlarını içerir. Bunlar (1) tirozin kinaz aktivitesi üzerinde etkili olan reseptörler ve (2) guanin nükleotid bağlayıcı proteinler üzerinde etkili olan reseptörler. Bunlar adenilat siklazı aktive veya inhibe ederek protein kinaz C aktivasyonuna ve hücre içi Ca^{++} salınımına veya hücre zarı iyon kanallarının modülasyonuna yol açabilir ve fosfatidil inositol bisfosfatın hidrolizi aktive edilebilir. (3) steroid hormonları, tiroid hormonu ve retinoik asit reseptörleri gibi hücre içi reseptörlerin ligand bağlayıcı alanları ve DNA bağlayıcı alanları, gen transkripsiyonunu modüle etmek için doğrudan DNA ile etkileşime girebilir. Tümör baskılayıcı gen inaktivasyonu veya onkogen aktivasyonu veya aşırı ekspresyonu nedeniyle, tüm bu reseptör aracılı sinyal mekanizmaları kanser hücrelerinde yukarı veya aşağı regülasyon için potansiyel bölgelerdir.

5.2. Tirozin Kinazlar

Tirozin kinazla etkileşen reseptörler kanserojenik değişiklikler için potansiyel hedeflerdir. Bu reseptörlerin aktivasyonu birçok anahtar substratın fosforilasyonuna yol açabilir. İntrinsik tirozin kinaz aktivitesi birçok büyüme faktörü reseptörünün hücresel etkilerine aracılık eder ve mitogeneze yer alan diğer substratlar da fosforile edilebilir. Transforming onkogen ürünleri büyüme faktörü veya büyüme faktörü benzeri aktivitelere sahiptir. Bunu tirozin kinazı aktive eden bir mekanizma aracılığıyla yaparlar. Örneğin, v-src gen ürününün

kendisi hücre zarıyla ilişkili bir tirozin kinazdır. v-sis onkogen ürününün kendisi de hücre zarıyla ilişkili bir tirozin kinazdır. v-sis onkogen ürünü trombosit kaynaklı büyüme faktörünün (PDGF) B zincirine neredeyse homologdur. v-erb ürünü epidermal büyüme faktörü (EGF) reseptörünün kesilmiş bir formudur. fms gen ürünü, koloni uyarıcı faktör reseptörü (CSF-1) için reseptör analogudur. Met ve trk protoonkogen ürünleri sırasıyla hepatosit büyüme faktörü (HGF) ve sinir büyüme faktörü (NGF) için reseptörlere katılabilir. Reseptör-tirozin kinaz etkileşimli aktiviteler için anahtar substratlardan bazıları şunlardır: (1) Fosfolipaz C (PLC- γ), fosfoditil inositol bifosfatın hidrolizi yoluyla ikinci haberci diaçilgliserol (DAG) ve inositol trifosfatın (IP3) salınımını aktive eder. Bu da protein kinaz C'yi (PKC) ve mobilize hücre içi kalsiyum salınımını aktive eder (birçok tümör promotörü de PKC'yi aktive eder). 2) GTPaz aktive edici protein GAP, ras protoonkogen protein fonksiyonunu modüle eder. (3) src benzeri tirozin kinazlar (4) IP3 kinaz, polyoma ılımlı T antijeni ve v-src ve v-abl gen ürünlerinin dönüştürücü aktiviteleri ile ilişkilidir ve bunları modüle edebilir. (5) ras protoonkogen ürününün kendisi bir serin treonin protein kinazdır. Protein kinazların aktivasyonu, hücre çoğalması için düzenleyici sinyalizasyonda kilit bir mekanizmadır. Bu kinazların substratları transkripsiyonu düzenleyen faktörlerdir. Bunlar jun, fos, myc, myb, rel ve ets gibi protoonkogenler tarafından kodlanan ve proteinlere bağlanan mitojenik sinyal yollarıdır (Knox ve Brown, 2002).

5. 3. Protein Fosfatazlar

Glikojen sentaz ve fosforilazın aktivasyon-inaktivasyon basamaklarında olduğu gibi, protein fosfatazlar da bazı hücrel metabolik fonksiyonlarda düzenleyici bir role sahiptir. Bu durum uzun zamandır bilinmesine rağmen, fosfatazların çeşitli reseptörlerin aktivitesinde ve bazı hücre döngüsü düzenleyici genlerin işlevinde rol oynadığı gösterilmiştir.

Günümüzde bilinen adıyla protein tirozin fosfatazlar (PTPazlar), hücre membranlarında bulunan farklı bir enzim ailesidir. c-Stc veya c-Raf gibi bazı kilit proteinler üzerindeki tirozinin atipik fosforilasyon durumu, teorik olarak protein kinazın düzensizleşmesi veya protein fosfatazların yetersiz ekspresyonu nedeniyle hücrel dönüşüme yol açabilir. Örneğin, bir PTPaz inhibitörü olan vanadat ile muamele edilen hücrelerde protein fosfataz seviyesi artar ve fenotip dönüşür. Yüksek seviyelerde spesifik PTPazların ekspresyonunun malign fenotipe dönüşümü tersine çevirebileceği ileri sürülebilir. Bir strateji olarak tümör hücrelerine enzim indükleyicileri eklenerek veya bu genler tümör hücrelerine transfekte edilerek başarılabılır. (Butti ve ark. 2018; Vasan ve Cantley, 2022).

6. Hücre Döngüsü Düzenlemesindeki Değişiklikler

Hücre döngüsü kontrol noktaları, hücre döngüsündeki kilit geçişlerde meydana gelir. Bunlar, hücrenin bir sonraki hücre döngüsü fazına ilerleyip ilerlemeyeceğini belirleyen devam/devam etmeme kararlılık noktalarını sağlar. Mantarlarda önemli bir hücre döngüsü düzenleyicisi olarak tanımlanan ilk genlerden biri *cdc2/cdc28* idi. Günümüzde, siklin bağımlı kinazların (cdk) aktivasyonu veya inaktivasyonunun hücre döngüsü düzenlemesinin birincil aracısı olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, hücre regülasyonunda fosforilasyon/fosforilasyonun önemi bir mekanizmadır. İnsan kanserlerinin bazı aşamalarında ve invaziv kanser ilerlemesinde, tüm kanserlerde olmasa da çoğu kanserde bu kontrol noktalarının çoğunda veya bazılarında değişiklikler meydana gelir.

G1/S kontrol noktasındaki değişiklikler birçok insan kanserinde görülür. Siklin D1 gen amplifikasyonları meme, özofagus, mesane, akciğer ve skuamöz hücreli karsinomlarda görülür. Siklin D2 ve D3 bazı kolorektal karsinomlarda aşırı eksprese edilir. Ek olarak, siklin D ile ilişkili kinazlar *cdk4* ve *cdk6* bazı kanserlerde aşırı eksprese edilir veya değişir. Ailesel olmayan akciğer ve yumurtalık karsinomlarında *cdk4* ve *cdk6* inhibitörü olan INK4'un mutasyonları veya delesyonları gözlenmiştir. *cdk4* inhibitör modülatörleri *p15*, *p16* ve *p18* mutasyonlarının inaktivasyonu farklı insan kanseri türlerinde gözlenmiştir. Siklin E ayrıca bazı meme ve kolon karsinomlarında ve lösemilerde aşırı eksprese edilmektedir.

G1/S kontrol noktası sistemindeki kilit oyuncu retinoblastoma geni *rb*'dir. Siklin-D bağımlı kinaz tarafından Rb fosforilasyonundan sonra, E2F transkripsiyon faktörleri ailesinin Rb-E2F komplekslerinden salınması, S-fazı geçişi için gerekli bir dizi genin ifadesini başlatır. Rb, retinoblastomdaki genetik değişikliklerle inaktive edilir ve bu inaktivasyon küçük hücreli akciğer karsinomları ve osteojenik sarkomlar gibi diğer insan kanserlerinde de görülür.

P53 gen ürünü, hücre döngüsünün G1/S ve G2/M kontrol noktalarında önemli bir kontrol noktası düzenleyicisidir. P53 tümör baskılayıcı geni, insan kanserinde en sık değiştirilen genidir. Bu nedenle, normal hücre döngüsü ilerlemesinin sürdürülmesinde önemli bir role sahiptir. P53'ün zorunlu bir temel rolü, genotoksik hasardan sonra hücreleri G1 hücrelerinde durdurması ve hücre bölünmesinden önce DNA replikasyonuna ve onarımına izin vermesidir. Yoğun DNA hasarına yanıt olarak, p53 apoptotik hücre ölüm yollarını tetikler.

Kontrol noktası kompleksinin oluşumunda rol oynayan genler *bub* ve *mad* genleridir. Üç *bub* geni ve üç *mad* geni sorumludur. Kromozomal *Mps1* de bu kontrol noktası işlevinde görev alır. Birçok insan kanserinde anöploidide neden olan kromozomal instabilite, kontrol noktalarının kusurlu kontrolünden kaynaklanmaktadır. İnsan *bub1* geninin mutant alelleri anöploid gösteren kolorektal tümörlerde gözlenmiştir (Seth, 2013).

7. Apoptoz

Apoptoz, çok hücreli organizmalarda, organizmanın gelişimi sonucunda yaşlanan veya gereksiz hücreleri ortadan kaldıran ve dokulardaki hücre sayısını düzenleyen bir hücre intihar mekanizmasıdır. Son yıllarda apoptozun biyokimyası üzerine çalışmalar yürütülmekte ve günümüzde bundan sorumlu mekanizmalar daha iyi anlaşılmaktadır. Bu enzimatik mekanizmalar ilk olarak nematod *C. elegans*'ta tanınmış ve daha sonra bu genlerin homologları ve ürünleri insan hücreleri de dâhil olmak üzere memeli hücrelerinde tanımlanmıştır.

Apoptotik yollar, kaspaz adı verilen proteazların bir dizi pozitif ve negatif düzenleyicisini içerir. Bunlar poli(ADP-riboz) polimeraz, aktin, fodrin ve lamin gibi substratlara bağlanır. Ayrıca apoptoz, kromozomal DNA'nın intranükleozomal bozunması ile ilişkilidir ve apoptoz geçiren hücrelerden izole edilen kromatinde tipik DNA sızıntıları gözlenmiştir. Günümüzde bu etkiden endonükleazların sorumlu olduğu bilinmektedir.

Buna ek olarak, birçok ölüm reseptörü tanımlanmıştır. Ölüm reseptörleri hücre yüzey reseptörleridir ve ölüm ligandları tarafından başlatılan apoptotik sinyalleri taşırlar. Bu reseptörler saniyeler içinde ligand bağlanması için ölüm kaspazlarını aktive edebilir ve saatler içinde apoptozu indükleyebilir. Ölüm reseptörleri, tümör nekroz faktörü (TNF) reseptör gen baskılayıcı ailesinin üyeleridir. Tipik olarak sistein bakımından zengin hücre dışı alanlara ve ölüm alanları adı verilen ek sitoplazmik dizilere sahiptirler. En iyi karakterize edilen ölüm reseptörleri CD95 (Fas veya Apo1 olarak adlandırılır) ve TNF reseptörü TNFR1'dir (p55 veya CD120a).

Kanser ilerlemesinde apoptotik yolun önemi, hücrelerin apoptoza girme yeteneğini değiştiren mutasyonlar olduğunda görülür ve hücreler ölmez, çoğalır ve dönüşür. Bu genetik değişiklikler lenfomalarda bcl-2 geninin translokasyonu ile ortaya çıkar. Böylece apoptoz engellenir ve sitotoksik ilaçlara karşı direnç gelişir. Apoptoz aşamasında etkili olan diğer genler c-myc, p53, c-fos ve interlökin-1 β -dönüştürücü enzim (ICE) genleridir. Farklı onkogen ürünleri apoptozu baskılayabilir. Bu ürünler adenovirüs proteini E16, ras ve v-abl'dir.

Apoptoz, tüm solid tümörlerde olmasa da çoğunda meydana gelir. İskemi, sitotoksik lenfositlerin infiltrasyonu ve TNF salınımı rol oynayabilir. Bu tümörlerde, mitoz yerine apoptoz lehine bir denge terapötik olarak avantajlı olabilir. Kanser hücrelerinde apoptozu indükleyen birçok antikanser ilaç bulunmaktadır. Sorun, bu antikanser ilaçların bu etkilerini genellikle normal çoğalan hücrelerde göstermesidir. Bu nedenle, tümör hücrelerinde apoptozun indüklenmesinde rol oynayan genlerin seçici olarak manipüle edilmesi hedeflenmelidir (Nicolaas ve ark., 2024).

7. KAYNAKLAR

- Ahrens TD, Bang-Christensen SR, Jørgensen AM, Løppke C, Spliid CB, Sand NT, Clausen TM, Salanti A, Agerbæk MØ. (2020). The Role of Proteoglycans in Cancer Metastasis and Circulating Tumor Cell Analysis. *Front Cell Dev Biol*. 2020 Aug 26;8:749. doi:10.3389/fcell.2020.00749.
- Butti, R., Das, S., Gunasekaran, V.P. et al. (2018). Receptor tyrosine kinases (RTKs) in breast cancer: signaling, therapeutic implications and challenges. *Mol Cancer* **17**, 34. <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0797-x>
- Dang, C.V. (2008). The Interplay Between MYC and HIF in the Warburg Effect. In: Kroemer, G., Mumberg, D., Keun, H., Riefke, B., Steger-Hartmann, ., Petersen, K. (eds) *Oncogenes Meet Metabolism*. Ernst Schering Foundation Symposium Proceedings, vol 2007/4. https://doi.org/10.1007/2789_2008_088
- Dituri, F., Gigante, G., Scialpi, R., Mancarella, S., Fabregat, I., & Giannelli, G. (2022). Proteoglycans in Cancer: Friends or Enemies? A Special Focus on Hepatocellular Carcinoma. *Cancers*, *14*(8), 1902. <https://doi.org/10.3390/cancers14081902>
- Feinberg, A. P. (2019). The molecular genetics of DNA methylation in colorectal cancer. *Cell and Molecular Biology of Colon Cancer*, 187-198.
- Greenstein JP. 1954. *Biochemistry of cancer*. New York: Academic Press,
- Gürsel Ü, Y., Budak, M. And Usturalı Keskin, FE. (2023). Methylation status, mRNA and protein expression of the SMAD4 gene in the patients with non-melanocytic skin cancer. *Molecular Biology Reports*, vol.50 (9). 7295-7304. <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-023-08656-2>.
- Hahn, P., Niemann, G., Grewe, A., Bielke, W. (2007). An siRNA-based system for differential regulation of ectopic gene expression constructs, *Journal of Biotechnology*, Volume 128, Issue 4, Pages 762-769, ISSN 0168-1656, <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2006.12.015>.
- Hoang BX, Han BO, Fang WH, Tran HD, Hoang C, Shaw DG, Nguyen TQ. (2023). The Rationality of Implementation of Dimethyl Sulfoxide as Differentiation-inducing Agent in Cancer Therapy. *Cancer Diagn Progn*. 3;3(1):1-8. doi: 10.21873/cdp.10172.
- Huang, R., Zhou, PK. (2021). DNA damage repair: historical perspectives, mechanistic pathways and clinical translation for targeted cancer therapy. *Sig Transduct Target Ther* **6**, 254 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00648-7>

- Knox, A.L. and Brown, N.H. (2002). Rap1 GTPase Regulation of Adherens Junction Positioning and Cell Adhesion. *Science* 295,1285-1288. DOI:10.1126/science.1067549
- Li, X., González-Maroto, C. & Tavassoli, M. (2024). Crosstalk between CAFs and tumour cells in head and neck cancer. *Cell Death Discov.* 10, 303. <https://doi.org/10.1038/s41420-024-02053-9>.
- Lloyd EG, Jihad M, Manansala JS, Li W, Cheng PSW, Mucciolo G, Zaccaria M, Pinto Teles S, Araos Henríquez J, Harish S, Brais R, Ashworth S, Luo W, Johnson PM, Veghini L, Vallespinos M, Corbo V, Biffi G. (2025). SMAD4 and KRAS Status Shape Cancer Cell-Stromal Crosstalk and Therapeutic Response in Pancreatic Cancer. *Cancer Res.* doi: 10.1158/0008-5472.CAN-24-2330.
- Mazalovska, M. and Kouokam, J.C. (2020). Plant-Derived Lectins as Potential Cancer Therapeutics and Diagnostic Tools, *BioMed Research International*, 1631394, pages,1-13. <https://doi.org/10.1155/2020/1631394>
- McMahon, B.J., Kwaan, H.C. (2015). Components of the Plasminogen-Plasmin System as Biologic Markers for Cancer. In: Scatena, R. (eds) *Advances in Cancer Biomarkers. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 867. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7215-0_10
- Miller, E.C, Miller, J.A. (1947). The presence and significance of bound aminoazo dyes in the livers of rats fed p-dimethylaminoazobenzene. *Cancer Research* 7:468–480.
- Morris, HP., Meranze, DR. (1973). Induction and Some Characteristics of “Minimal Deviation” and Other Transplantable Rat Hepatomas. In: Grundmann, E. (eds) *Special Topics in Carcinogenesis. Recent Results in Cancer Research*, vol 44. https://doi.org/10.1007/978-3-642-80786-2_17
- Mu, H., Yu, G., Li, H. et al. (2021). Mild chronic hypoxia-induced HIF-2 α interacts with c-MYC through competition with HIF-1 α to induce hepatocellular carcinoma cell proliferation. *Cell Oncol.* 44, 1151–1166. <https://doi.org/10.1007/s13402-021-00625-w>
- Nicolaas J.B., Oliveira, RA., Adva, KP. *et al.* (2024). DNA damage induces p53-independent apoptosis through ribosome stalling. *Science*. 384,785-792, DOI:10.1126/science.adh7950
- Nicolini, A., Ferrari, P., Rossi, G. (2015). Mucins and Cytokeratins as Serum Tumor Markers in Breast Cancer. In: Scatena, R. (eds) *Advances in Cancer Biomarkers. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 867. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7215-0_13

- Popov, B.V., Petrov, N.S., Mikhailov, V.M. et al. (2009). Spontaneous transformation and immortalization of mesenchymal stem cells in vitro. *Cell Tiss. Biol.* **3**, 110–120. <https://doi.org/10.1134/S1990519X09020023>
- Orntoft, T.F. and Vestergaard, E.M. (1999), Clinical aspects of altered glycosylation of glycoproteins in cancer. *ELECTROPHORESIS*, **20**: 362-371.
- Potter, M., Newport, E., Morten, K. J. (2016). The Warburg effect: 80 years on. *Biochem Soc Trans* **15** October 2016; **44** (5): 1499–1505. doi: <https://doi.org/10.1042/BST20160094>
- Potter, VR. (1950). *Enzymes, Growth and Cancer*. Springfield: Charles C Thomas, 1950.
- Sehgal, P., & Chaturvedi, P. (2023). Chromatin and Cancer: Implications of Disrupted Chromatin Organization in Tumorigenesis and Its Diversification. *Cancers*, **15**(2), 466. <https://doi.org/10.3390/cancers15020466>
- Spencer, V.A. and Davie, J.R. (2000), Signal transduction pathways and chromatin structure in cancer cells. *J. Cell. Biochem.* **79**: 27-35. [https://doi.org/10.1002/1097-4644\(2000\)79](https://doi.org/10.1002/1097-4644(2000)79)
- Seth, MR. (2013). Deciphering the retinoblastoma protein phosphorylation code. *Trends in Biochemical Sciences*, Vol. 38, No. 1, Pages 12-19. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibs.2012.10.007>
- Shay, J.W. and Wright, W. E. (2011). Role of telomeres and telomerase in cancer, *Seminars in Cancer Biology*, Volume 21, Issue 6, Pages 349-353, <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2011.10.001>.
- Sisinni, L., Landriscina, M. (2015). The Role of Human Chorionic Gonadotropin as Tumor Marker: Biochemical and Clinical Aspects. *Advances in Cancer Biomarkers*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 867. 159-176. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7215-0_11
- Vasan, N., Cantley, L.C. (2022). At a crossroads: how to translate the roles of PI3K in oncogenic and metabolic signalling into improvements in cancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol* **19**, 471–485. <https://doi.org/10.1038/s41571-022-00633-1>
- von Warburg O. 1930. *The metabolism of tumours*. London
- Volker W. (2007). Early references to the mutational origin of cancer, *International Journal of Epidemiology*, Volume 36, Issue 1, Pages 246 - 247. <https://doi.org/10.1093/ije/dyl272>

- Wang, M., Sunkel, B.D., Ray, W.C. et al. (2022). Chromatin structure in cancer. *BMC Mol and Cell Biol* 23. <https://doi.org/10.1186/s12860-022-00433-6>
- Weber GF. 1977. Enzymology of cancer cells (first of two parts). *New England Journal of Medicine* 296:486–493.
- Weber GF.(2007). Theories of Carcinogenesis. In: *Molecular Mechanisms of Cancer*. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6016-8_1
- Weinhouse, S. (1980), New dimensions in the biology of cancer. *Cancer*, 45: 2975-2980.



BÖLÜM 3

Hayvancılıkta Dijital İkizler: Teknolojiler, Omik Veriler ve Gelecek Perspektifleri

Sertaç Atalay¹

1. Giriş

Tarım ve hayvancılık, günümüzde yalnızca üretim verimliliği açısından değil aynı zamanda hayvan refahı, çevresel sürdürülebilirlik ve küresel gıda güvenliği açısından da stratejik bir önem taşımaktadır. Son yıllarda yaşanan dijital dönüşüm, sensör teknolojileri, nesnelerin interneti (IoT), veri analitiği ve otomasyon sistemleri aracılığıyla verimlilik, kaynak optimizasyonu ve karar destek süreçlerinde önemli ilerlemeler sağlanmıştır. Bu yaklaşım, iklim, toprak ve bitki verilerinin yanı sıra hayvansal üretimde de gerçek zamanlı veri takibini mümkün kılarak üretim süreçlerinin daha kontrollü ve verimli yönetilmesini sağlamaktadır (Si, 2024; Symeonaki, Maraveas, & Arvanitis, 2024).

Özellikle dijital ikizler, tarım ve hayvancılıkta yeni bir bakış açısı sunmaktadır. Günümüzde kullanılan dijital ikiz uygulamaları, çoğunlukla sensör teknolojileri ve IoT tabanlı veri toplama sistemleriyle entegre edilmiştir. Bu sistemler, hayvanların sağlık göstergeleri, yem tüketimi, aktivite düzeyleri ve çevresel parametreler gibi fenotipik verileri toplayarak çiftlik yönetiminde karar desteği sağlamaktadır (Das, Roy, & Sahoo, 2025). Ancak mevcut uygulamalar büyük ölçüde izleme ve kısa vadeli öngörü kapasitesiyle sınırlıdır. Geleceğin dijital ikizleri ise yalnızca fenotipik ve çevresel verilerle yetinmeyecek, çok katmanlı omik verilerin (genomik, transkriptomik, proteomik, metabolomik, mikrobiyom) entegrasyonu ve yapay zeka destekli karar mekanizmaları ile biyolojik süreçleri daha yüksek çözünürlükte temsil edebilecektir. Böylelikle bireysel hayvanların genetik potansiyeli ve fizyolojik yanıtlarına göre proaktif, kişiselleştirilmiş ve uzun vadeli öngörüler üretilebilecek, bu da günümüz uygulamalarından temel bir farklılık yaratacaktır (Wadood, Bordbar, & Zhang, 2025).

Bununla birlikte, bu vizyonun hayata geçmesi çeşitli teknik ve metodolojik zorluklarla karşı karşıyadır. Omik verilerin yüksek boyutluluğu ve farklı formatlarda olması entegrasyon süreçlerini karmaşıktırmaktadır. Saha koşullarında sürekli ve güvenilir veri toplayabilecek biyosensörler henüz sınırlı düzeyde kullanılabilmektedir. Ayrıca çevresel değişkenlikler, hayvan refahı faktörleri ve örnekleme sınırlılıkları, dijital ikizlerin öngörü doğruluğunu etkilemektedir. Çoklu omik katmanların yapay zekâ algoritmalarıyla anlamlı ve

¹ Doç. Dr., Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, NABİLTEM,
ORCID: 0000-0003-4942-7729

güvenilir şekilde bütünleştirilmesi ise halen önemli bir araştırma alanı olarak öne çıkmaktadır (Mohr, Ortega-Santos, Whisner, Klein-Seetharaman, & Jasbi, 2024; R. Zhang, Zhu, Chang, & Mao, 2025).

Sonuç olarak, bu bölüm hem mevcut uygulamaları hem de gelecek perspektiflerini ele alarak, omik verilerin çiftlik hayvanlarının dijital ikizlerine entegrasyonunun sunduğu fırsatları ve karşılaşılan teknik zorlukları tartışmayı amaçlamaktadır. Böylece, yalnızca üretim verimliliğinin artırılması değil aynı zamanda hayvan refahı, çevresel sürdürülebilirlik ve tarımsal risk yönetimi açısından da dijital ikizlerin dönüştürücü rolü ortaya konulacaktır.

2. Dijital İkiz Kavramı

Dijital ikiz, fiziksel bir varlık, süreç veya sistemin dijital ortamda oluşturulmuş dinamik bir temsildir. Bu sanal model, gerçek dünyadan elde edilen verilerle sürekli güncellenerek fiziksel sistemin davranışlarını, durumunu ve performansını gerçek zamanlı olarak izleme, analiz etme ve optimize etme imkânı sunar (Jones, Snider, Nassehi, Yon, & Hicks, 2020; Tao, Zhang, Liu, & Nee, 2018). Kavram ilk olarak 1960'lı yıllarda NASA'nın Apollo programında yedek sistemlerin simülasyonu amacıyla ortaya çıkmış, uzay araçlarının yeryüzünde tam kopyaları oluşturularak uzaydaki sistemlerin davranışları simüle edilmiş ve olası arızalara karşı çözümler geliştirilmiştir. Zaman içinde bu yaklaşım, üretim ve mühendislik alanlarında kurumsallaşarak endüstriyel uygulamaların vazgeçilmez bir parçası haline gelmiştir (Grieves & Vickers, 2016). Dijital ikiz teknolojisi, Endüstri 4.0 ile hız kazanan dijital dönüşümün bir sonucu olarak ortaya çıkmıştır. IoT, büyük veri analitiği ve yapay zekâ ile bütünleşen bu teknoloji; sağlık, tarım, enerji, şehir planlaması ve çevre yönetimi gibi birçok alanda stratejik bir araç haline gelmiştir (Fuller, Fan, Day, & Barlow, 2020; Mihai et al., 2022; Nasirahmadi & Hensel, 2022; Tortora et al., 2025; X. Xu et al., 2025).

Hayvancılıkta dijital ikiz uygulamaları, bireysel hayvanların fizyolojik, davranışsal ve çevresel verilerini entegre ederek hem refahın iyileştirilmesini hem de üretim verimliliğinin artırılmasını amaçlar. Bu bağlamda bir dijital ikiz üç temel bileşenden oluşur: (i) gerçek dünyada izlenen fiziksel varlık, örneğin bir süt ineği, damızlık boğa veya broiler tavuk; (ii) hayvanın biyolojik süreçlerini, davranışlarını ve fizyolojik parametrelerini yansıtan algoritmalar ve matematiksel modellerden oluşan sanal temsil; (iii) sensörlerden ve farklı kaynaklardan elde edilen verilerle fiziksel ve dijital sistem arasında sürekli, çift yönlü bilgi akışını sağlayan entegrasyon katmanı (Iranshahi, Brun, Arnold, Sergi, & Müller, 2025; Neethirajan, 2023; Y. Zhang et al., 2025). Bu üçlü mimari sayesinde dijital ikiz yalnızca pasif bir gözlem aracı olmaktan çıkar ve aktif bir karar destek sistemi haline gelir. Sistem, fiziksel varlıktan gelen verileri analiz ederek sanal modeli günceller. Bu model üzerinden öngörüler ve öneriler üretir,

ardından bu önerilerin fiziksel varlık üzerindeki etkilerini izleyerek kendini sürekli optimize eder.

3. Hayvancılık Sektöründe Dijital İkizlerin Uygulamaları

Hayvancılık, tarım endüstrisinin temel taşlarından biri olarak yalnızca küresel gıda arzına katkı sağlamakla kalmaz aynı zamanda milyonlarca insana istihdam yaratır ve kırsal ekonomiyi ayakta tutar. Modern hayvancılık işletmeleri, artan girdi maliyetleri, iklim değişikliği, hayvan hastalıkları ve sürdürülebilirlik baskıları gibi çok boyutlu zorluklarla karşı karşıyadır. Bu nedenle, dijital ikiz teknolojileri, hayvancılık sektörünün karmaşık doğasına çözüm sunabilecek umut verici bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir. Bu bağlamda, Hassas Hayvancılık Yönetimi (Precision Livestock Farming, PLF) kavramı, sensörler aracılığıyla elde edilen verilerin analiz edilerek bireysel hayvan düzeyinde karar destek sistemlerine dönüştürülmesini ifade eder (Si, 2024). PLF yaklaşımı, geleneksel sürü yönetiminde uygulanan "ortalama hayvana göre" stratejilerin yerini, "her hayvana özel" kişiselleştirilmiş uygulamalara bırakır ve dijital ikiz uygulamalarının temelini oluşturur (Kate & Neethirajan, 2025; Symeonaki et al., 2024).

Dijital ikiz sistemlerinin hayvancılıktaki temel işlevleri arasında gerçek zamanlı izleme ve analiz, erken uyarı ve hastalık öngörüsü ile kişiselleştirilmiş yönetim bulunmaktadır. Otomasyon ve sensör tabanlı teknolojiler sayesinde çiftçiler, sürü yönetimini daha etkin biçimde gerçekleştirebilir. Her bir hayvanın sağlık durumu, aktivite düzeyi ve üretim performansı gerçek zamanlı olarak izlenebilir. Giyilebilir IoT cihazları (boyun tasmaları, kulak küpeleri veya bacak bantları şeklindeki sensörler) aracılığıyla vücut sıcaklığı, kalp ritmi, solunum hızı ve hareket düzeyleri gibi fizyolojik göstergeler sürekli takip edilerek hastalıkların erken teşhisi mümkün hale gelir. Örneğin bir süt ineğinin dijital ikizi, vücut sıcaklığı, kalp atışı, hareket düzeyi ve yem tüketimi gibi sensör verilerini sürekli toplayıp analiz ederek hayvanın anlık sağlık durumu ve performansı hakkında kapsamlı bilgi sağlar (Cesco et al., 2023; Hasan et al., 2024; Lv, Li, & Li, 2025). Video analitik ve hareket sensörleriyle yapay zeka destekli kamera sistemleri kullanılarak hayvan davranışları otomatik olarak izlenir ve sınıflandırılır. Azalmış hareketlilik, izolasyon eğilimi veya tekrarlayan huzursuz hareketler gibi anormal davranış örüntüleri stres, ağrı veya hastalık gibi durumların erken belirtisi olarak değerlendirilir (Beaver & Rutter, 2023; Lv et al., 2025; Y. Zhang et al., 2025).

Süt sığırcılığı, dijital ikiz teknolojilerinin en gelişmiş uygulama alanlarından biridir. Her hayvan için laktasyon evresi, vücut kondisyonu ve süt bileşimi dikkate alınarak kişiselleştirilmiş beslenme programları oluşturulur ve sağım zamanlamaları her ineğin fizyolojik döngüsüne göre optimize edilerek süt verimi maksimize edilir. Östrus döngüleri, aktivite ve fizyolojik göstergeler kullanılarak

hassas biçimde takip edilerek optimal çiftleşme zamanını belirlenir ve tohumlama başarısı artırılır (Rao & Neethirajan, 2025; J. Wang et al., 2022). Mastitis ve topallık gibi yaygın hastalıklar için erken uyarı sistemleri geliştirilir. Örneğin süt elektriksel iletkenliğindeki değişimler, hareket örüntülerindeki anormallikler ve vücut sıcaklığındaki artışlar birlikte değerlendirilerek klinik semptomlar ortaya çıkmadan müdahale fırsatı yakalanır (R. Guo, Dai, & Hu, 2025; Tian et al., 2024).

Dijital ikizler aynı zamanda olasılık temelli senaryoları yürütme kapasitesine sahiptir. Bu senaryolar, fiziksel sistem üzerinde yapılabilecek değişikliklerin sanal ortamda test edilmesini ve risk almadan sonuçların öngörülmesini sağlar (Kritzinger, Karner, Traar, Henjes, & Sihn, 2018; Negri, Fumagalli, & Macchi, 2017). Örneğin bir sürüde mastitis vakalarının %30 artması durumunda, dijital ikiz modeli üzerinden süt verimi ve yem tüketimi üzerindeki etkiler simüle edilebilir. Farklı antibiyotik protokolleri ve barınak hijyen stratejileri sanal ortamda test edilerek en etkili ve ekonomik çözüm belirlenebilir. Böylece gerçek sürü üzerinde deneme yanılma yöntemiyle ilerlemek yerine veri temelli ve bilimsel olarak optimize edilmiş bir strateji uygulanır. Benzer şekilde, yaz aylarında sıcaklık ortalamasının 3°C artması durumunda hayvan performansı, su tüketimi ve enerji ihtiyacı değişimleri modellenenebilir. Farklı soğutma sistemleri, gölgelendirme alternatifleri ve yem formülasyonu değişikliklerinin etkinliği karşılaştırılarak iklim değişikliğine adaptasyon stratejileri geliştirilebilir. Bu yönüyle dijital ikiz teknolojisi, yalnızca mevcut koşulların izlenmesini değil, aynı zamanda geleceğe yönelik proaktif planlamaların yapılmasını mümkün kılar (Arulmozhi et al., 2024; Brown-Brandl & Tao, 2025; Iranshahi et al., 2025; Kate & Neethirajan, 2025; Purcell & Neubauer, 2023; Tangorra, Buoio, Calcante, Bassi, & Costa, 2024).

3.1. Dijital İkizlerin Temel Veri Kaynakları ve Veri Toplama Teknolojileri

Dijital ikizlerin altyapısını, güvenilir ve sürekli güncellenen veri kaynakları oluşturur. Bu aşamada biyosensörler, kamera tabanlı sistemler ve IoT tabanlı sensörler aracılığıyla fizyolojik (örneğin vücut sıcaklığı, rumen aktivitesi), davranışsal (hareket, beslenme, sosyal etkileşim) ve çevresel (sıcaklık, nem, hava kalitesi) veriler elde edilir (Tablo 1) (Abbas et al., 2025; Gupta, Nirmala, Reddy, & Kumar, 2024; Tangorra et al., 2024).

Bu veriler, fizyolojik, davranışsal ve çevresel dijital ikiz modellerine dönüştürülerek hayvanın çok boyutlu bir temsili oluşturulur. Fizyolojik veri kaynakları arasında kızılötesi sıcaklık sensörleri hayvanın vücut yüzeyi ve rektal sıcaklığını ölçerek sağlık takibinde kullanılır. Rumen bolus sensörleri rumen içine yerleştirilir ve pH, sıcaklık ile bazı metabolik göstergeleri sürekli ölçerek sindirim sağlığı, yem verimliliği ve genel metabolik durumun izlenmesini sağlar. Kalp atım hızı sensörleri hayvanın stres seviyesini, sağlık durumunu ve

kondisyonunu izler ve genellikle boyun veya göğüs bandına entegre edilir. Solunum sensörleri solunum sayısı ve derinliğini ölçerek hastalık veya stres göstergesi sağlar. Glukoz ve metabolit sensörleri kan veya interstisyel sıvı üzerinden glukoz ve diğer metabolitleri ölçerek metabolik durum ve beslenme takibi yapar (Tablo 1) (Basak et al., 2020; Berckmans, 2017; Das et al., 2025; Hajnal, Kovács, & Vakulya, 2022; Nie, Berckmans, Wang, & Li, 2020; Patel, Shukla, Malik, Tripathi, & Pandya, 2024; Rajesh, Pavan Kumar, & Govind Rajesh, 2024; Wu, Han, Song, Song, & Duan, 2023)

Davranışsal veri toplama teknolojileri, hayvanların günlük aktivitelerini, sosyal etkileşimlerini ve çevresel tepkilerini izlemek için kullanılır. 2D kameralar hayvan aktivitelerini izler, duruş tespiti yapar ve davranış sınıflandırması gerçekleştirir. 3D kameralar hayvanların üç boyutlu hareketlerini ve duruşlarını izleyerek daha hassas davranış analizi sağlar. Mikrofonlar hayvan seslerini kaydederek davranış ve sağlık durumunu izler. Aktivite ve hareket sensörleri tüm vücut hareketlerini ölçerek davranış analizi, uyku, aktivite ve üreme durumu izlenmesine olanak tanır. Geviş getirme sensörleri hayvanın geviş getirme davranışını ölçerek sindirim ve sağlık durumunu izler. Boyun bantları ve bacak bantları fiziksel aktivite, hareket davranışları ve bazı fizyolojik parametrelerin takibi için kullanılır (Gómez et al., 2021; Huang et al., 2018; M. Lee & Seo, 2021; Mancuso, Castagnolo, & Porto, 2023; Ruchay et al., 2022).

Çevresel veri sensörleri, hayvanların yaşadığı ortamın fiziksel ve kimyasal özelliklerini sürekli olarak izler. Termal kızılötesi kameralar hayvanın vücut sıcaklığını temassız olarak izleyerek stres ve hastalık göstergesi sağlar. Gaz sensörleri (CH₄, CO₂, NH₃) ahır ortamındaki metan, karbondioksit veya amonyak gazlarını izleyerek hem hayvan hem çevresel sağlık takibi sağlar. Işık ve mikroçevre sensörleri sıcaklık, nem, ışık seviyesi gibi çevresel parametreleri ölçerek hayvan refahı ve üretim optimizasyonu için kullanılır. Su tüketim sensörleri su içme davranışını izleyerek hastalık veya stres göstergesi olarak değerlendirilebilir (Jannat, Johnson, & Manriquez, 2025; Provolto et al., 2025; Tang et al., 2021).

Tanımlama ve kayıt sistemleri, bireysel hayvan bazında veri entegrasyonunu ve takibini mümkün kılar. Radyo frekansı ile tanımlama (RFID) yapan kulak küpeleri hayvanların tanımlanması ve izlenmesi için kullanılarak bireysel takip sağlar. Yük hücreleri hayvan ağırlığını veya belirli noktaya uygulanan basıncı ölçerek büyüme ve sağlık takibi gerçekleştirir. Laktasyon ve süt sensörleri süt hacmi, yağ ve protein içeriklerini ölçerek verim ve sağlık göstergesi sağlar. Bu temel katmandaki verilerin doğruluğu, sonraki analizlerin güvenilirliği açısından kritik öneme sahiptir (Adrion et al., 2018; Gómez et al., 2021; Steeneveld, Vernooij, & Hogeveen, 2015).

Pratik bir uygulama örneği olarak, süt sığırlarının aktivite takibi için geliştirilen MOOnitor cihazı, boyuna takılan akıllı IoT tabanlı bir sistemdir. Bu cihaz, sıcaklık sensörü, GPS modülü ve üç eksenli ivmeölçer aracılığıyla hayvanın fizyolojik ve davranışsal verilerini toplar. Toplanan veriler, mikrodenetleyici ve GSM modülü üzerinden IoT sunucusuna iletilerek işlenir ve XGBoost ile Random Forests algoritmaları kullanılarak yürüyüş, otlama, uzanma, ayakta durma ve geviş getirme gibi temel aktiviteler yüksek doğrulukla sınıflandırılır (Şekil 1) (D. Dutta, Natta, Mandal, & Ghosh, 2022).

Tablo 1. Fenotipik Verilerin Toplanmasında Kullanılan Sensör Türleri ve Kullanım Amaçları

Sensör Türü	Kullanım Amacı	Referans
Kızılötesi Sıcaklık Sensörü	Hayvanın vücut yüzeyi ve rektal sıcaklığını ölçer; sağlık takibi için kullanılır.	(Basak et al., 2020)
Mikrofon	Hayvan seslerini kaydederek davranış ve sağlık durumunu izler.	(Gómez et al., 2021)
Termal Kamera	Hayvanın vücut sıcaklığını temassız olarak izler; stres ve hastalık göstergesi sağlar.	(Z. Zhang, Zhang, & Liu, 2019)
2D Kamera	Hayvan aktivitelerini izler, duruş tespiti yapar ve davranış sınıflandırması yapar.	(Ruchay et al., 2022)
3D Kamera	Hayvanların üç boyutlu hareketlerini ve duruşlarını izler; daha hassas davranış analizi sağlar.	(Huang et al., 2018)
Yük Hücresi	Hayvan ağırlığını veya belirli noktaya uygulanan basıncı ölçer; büyüme ve sağlık takibi sağlar.	(Gómez et al., 2021)
RFID Kulak Küpesi	Hayvanların tanımlanması ve izlenmesi için kullanılır; bireysel takip sağlar.	(Adrion et al., 2018)
Geviş Sensörü	Hayvanın geviş getirme davranışını ölçer; sindirim ve sağlık durumunu izler.	(Mancuso et al., 2023)
Boyun Bandı	Fiziksel aktivite ve bazı fizyolojik parametrelerin takibi için kullanılır.	(M. Lee & Seo, 2021)
Bacak Bandı	Aktivite ve hareket davranışlarını izler; sağlık durumunu değerlendirmeye yardımcı olur.	(M. Lee & Seo, 2021)
Rumen Sensörü	Rumen içine yerleştirilir; pH, sıcaklık ve bazı metabolik göstergeleri sürekli ölçer; sindirim sağlığı, yem verimliliği ve genel sağlık takibi için kullanılır.	(Hajnal et al., 2022)
Kalp Atım Hızı	Hayvanın stres seviyesini, sağlık durumunu ve kondisyonunu izler;	(Nie et al., 2020)

genellikle boyun veya göğüs bandına entegre edilir.

Solunum Sensörleri	Solunum sayısı ve derinliğini ölçerek hastalık veya stres göstergesi sağlar. (Wu et al., 2023)
Aktivite / Hareket Sensörleri	Tüm vücut hareketlerini ölçer; davranış analizi, uyku, aktivite ve üreme durumu izlenebilir. (Pereira et al., 2020)
Gaz Sensörleri	Ahır ortamındaki metan, karbondioksit veya amonyak gazlarını izleyerek hem hayvan hem çevresel sağlık takibi sağlar. (Jannat et al., 2025)
Laktasyon / Süt Sensörleri	Süt hacmi, yağ ve protein içeriklerini ölçer; verim ve sağlık göstergesi sağlar. (Steenefeld et al., 2015)
Glukoz / Metabolit Sensörleri	Kan veya interstisyel sıvı üzerinden glukoz ve diğer metabolitleri ölçer; metabolik durum ve beslenme takibi yapılabilir. (Patel et al., 2024; Singh, Mal, Gautam, & Mukesh, 2019)
Su Tüketim Sensörleri	Su içme davranışını izler; hastalık veya stres göstergesi olarak kullanılabilir. (Tang et al., 2021)
Işık / Mikroçevre Sensörleri	Sıcaklık, nem, ışık seviyesi gibi çevresel parametreleri ölçer; hayvan refahı ve üretim optimizasyonu için kullanılır. (Provolo et al., 2025)



Şekil 1. Süt sığırlarının aktivite takibi için geliştirilen MOONitor cihazı. Boyuna takılan bu IoT tabanlı sistem; sıcaklık sensörü, GPS modülü ve üç eksenli ivmeölçer aracılığıyla hayvanın fizyolojik ve davranışsal verilerini toplar. Toplanan veriler, mikrodenetleyici ve GSM modülü üzerinden IoT sunucusuna iletilerek işlenir ve XGBoost ile Random Forests algoritmaları kullanılarak yürüyüş, otlama, uzanma, ayakta durma ve geviş getirme gibi temel aktiviteler yüksek doğrulukla sınıflandırılır (D. Dutta et al., 2022).

3.2. Entegre Uygulama Alanları ve Sağladığı Faydalar

Temel katmanda toplanan farklı veri türleri, uygulama katmanında entegre edilerek hayvancılık operasyonlarının temel hedeflerine hizmet eden kapsamlı dijital ikiz modellerinin geliştirilmesini sağlar. Bu entegrasyon, özellikle sağlık, üretim ve üreme gibi kritik alanlarda derin bir kavrayış ve proaktif yönetim imkânı sunar (Symeonaki et al., 2024). Geleneksel tek boyutlu ölçüm ve tepkisel yaklaşımlardan, çok boyutlu veriye dayalı öngörüler ve kişiselleştirilmiş proaktif yönetim stratejilerine geçiş, bu entegrasyonun temel amacını oluşturur.

Sağlık ve refah dijital ikizleri, fizyolojik, davranışsal ve çevresel verilerin bütünleştirilmesiyle oluşturulur ve hastalıkların çok erken aşamada teşhis edilmesine, olası ilerleyişlerinin öngörülmesine ve hayvan refahının sürekli olarak korunmasına olanak tanır. Örneğin vücut sıcaklığında ani artış, hareket aktivitesinde azalma, yem tüketiminde düşüş ve geviş getirme süresinde kısalma bir araya getirildiğinde, klinik semptomlar belirginleşmeden önce enfeksiyöz bir hastalığın başlangıcı tespit edilebilir ve erken müdahale ile tedavi maliyetleri azaltılırken hayvanın acı çekmesinin süresi kısaltılabilir. Benzer şekilde sıcaklık stresi riski, ortam sıcaklığı, nem oranı, hayvanın solunum hızı ve vücut sıcaklığı verilerinin entegrasyonu ile öngörülebilir. Soğutma sistemlerinin devreye alınması, yem formülasyonunun değiştirilmesi veya otlatma saatlerinin yeniden düzenlenmesi gibi önleyici tedbirler alınabilir (Escribà-Gelonch et al., 2024; Hasan et al., 2024; Neculai-Valeanu, Sanduleanu, & Porosnicu, 2025; Symeonaki et al., 2024).

Üretim verimi dijital ikizleri, genetik kapasite ve anlık fizyolojik durumu bir araya getirerek süt verimi, yem dönüşüm oranı ve büyüme performansı gibi parametrelerin optimize edilmesinin yanı sıra, her bir hayvan için kişiselleştirilmiş besleme ve bakım stratejilerinin belirlenmesine zemin hazırlar. Bir süt ineğinin genetik potansiyeli, yüksek süt üretimi için uygun olsa bile, rumen pH'sının düşük olması veya aktivite düzeyinin azalması bu potansiyelin gerçekleşmesini engelleyebilir. Dijital ikiz bu parametreleri sürekli izleyerek yem rasyonunda gerekli ayarlamaları önerir ve böylece her hayvanın genetik kapasitesine ulaşması desteklenir. Kişiselleştirilmiş besleme stratejileri sayesinde aşırı yem tüketimi ve israf önlenir, yem maliyetleri optimize edilir ve metabolik hastalık riskleri azaltılır. Broiler tavuklarda büyüme hızı, yem dönüşüm oranı, hareketlilik ve çevresel koşullar birlikte değerlendirilerek her bir hayvan grubu için optimal kesim zamanı ve ağırlığı belirlenebilir (Brown-Brandl & Tao, 2025; Han et al., 2022; Quintana-Ospina et al., 2023; Rao & Neethirajan, 2025; R. Zhang et al., 2025).

3.3. Yönetim, Karar Destek Sistemleri ve Sürdürülebilirlik

En üst düzeyde, bireysel hayvanlardan toplanan veriler sürü, çiftlik ve hatta tüm işletme ölçeğine ölçeklendirilerek bütüncül ve entegre yönetim modellerinin oluşturulmasına olanak tanır. Bu genişletilmiş perspektif, operasyonel verimlilikten sürdürülebilirliğe kadar tüm süreçlerin optimize edilmesini sağlar. Bireysel dijital ikizlerden elde edilen içgörüler, toplu olarak değerlendirildiğinde çiftlik düzeyinde stratejik kararların alınmasını destekler ve yönetim süreçlerini daha şeffaf, ölçülebilir ve veri temelli hale getirir (Arulmozhi et al., 2024; Symeonaki et al., 2024).

Çiftlik yönetim dijital ikizleri, hayvan performans verilerini ekonomik göstergeler ve kaynak tüketimiyle (yem, enerji, su, iş gücü) birleştirerek operasyonel maliyetlerin düşürülmesi ve kârlılığın artırılması için güçlü bir planlama aracı işlevi görür. Örneğin tüm sürünün yem tüketim verileri, bireysel süt üretim performansı, sağlık kayıtları ve piyasa fiyatları bir araya getirilerek optimal sürü büyüklüğü ve kompozisyonu belirlenebilir. Hangi hayvanların damızlık olarak tutulması, hangilerinin sürüden çıkarılması gerektiği kararları, salt üretim performansına değil aynı zamanda hastalık direnci, yem verimliliği ve davranışsal uyuma da dayandırılabilir. Yem satın alma zamanlaması, depolama kapasitesi ve sürünün gelecekteki besin ihtiyaçları tahmin edilerek envanter yönetimi optimize edilir ve fiyat dalgalanmalarından kaynaklanan riskler azaltılır. İşletme düzeyinde enerji tüketimi, su kullanımı, işçilik verimliliği ve ekipman bakım ihtiyaçları dijital ikiz modelleriyle takip edilerek kaynak israfı minimize edilir ve toplam işletme maliyetleri düşürülür (Arulmozhi et al., 2024; Neethirajan, 2020; Purcell, Neubauer, & Mallinger, 2023; Tagarakis et al., 2024).

Sürü refahı dijital ikizleri, bireysel refahı aşarak grup dinamiklerini, barınak koşullarının toplu stres düzeyine etkisini ve sosyal etkileşimleri modelleyerek sürü bazında refahın nesnel olarak iyileştirilmesine odaklanır. Geleneksel refah değerlendirmeleri genellikle subjektif gözlemlere veya periyodik denetimlere dayanırken, dijital ikizler sürekli ve objektif ölçümler sunarak refah sorunlarının erken tespitini sağlar. Örneğin bir barınaktaki havalandırma sisteminin yetersizliği, bireysel hayvan düzeyinde vücut sıcaklığı artışı ve solunum hızı yükselmesi şeklinde tespit edilebilir. Ancak sürü düzeyinde değerlendirildiğinde bu etki daha net görülür ve tüm sürünün %60'ında aynı anda stres göstergelerinin artması, yapısal bir soruna işaret eder. Benzer şekilde sosyal hiyerarşi ve grup dinamikleri, bireysel hayvanların beslenme ve dinlenme alanlarını kullanma sıklığı, diğer hayvanlarla etkileşim düzeyi ve hareket örüntüleri analiz edilerek değerlendirilebilir. Baskın hayvanların sürekli olarak belirli alanları işgal etmesi ve diğer hayvanların bu alanlardan kaçınması tespit edildiğinde, barınak düzeni ve kaynak dağılımı yeniden planlanarak tüm sürünün refah düzeyi iyileştirilebilir (Arulmozhi et al., 2024; Tagarakis et al., 2024; Youssef et al., 2024).

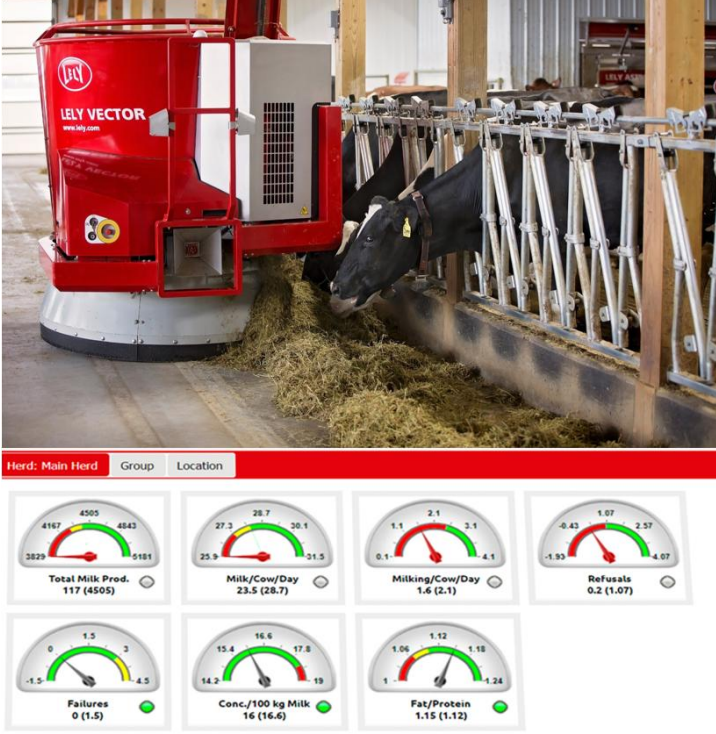
Sürdürülebilirlik dijital ikizleri, operasyonel faaliyetlerin çevresel etkilerini (karbon ayak izi, metan emisyonları, gübre yönetimi) nicelleştirir ve farklı üretim senaryolarının simüle edilerek iklim dostu ve kaynak açısından verimli stratejilerin geliştirilmesine olanak tanır. Her bir hayvanın yem tüketimi, metan üretimi, gübre bileşimi ve su kullanımı verileri toplanarak çiftlik düzeyinde toplam çevresel etki hesaplanır. Farklı yem formülasyonlarının (örneğin düşük proteinli rasyon, yağ takviyesi, metan inhibitörleri) metan emisyonları üzerindeki etkisi simüle edilerek hem çevresel hem de ekonomik açıdan en uygun seçenek belirlenir. Gübre yönetim stratejileri (anaerobik sindirim, kompostlama, doğrudan gübre olarak kullanım) farklı senaryolar altında test edilerek azot ve fosfor kayıpları minimize edilir, sera gazı emisyonları azaltılır ve enerji üretimi potansiyeli değerlendirilir. Su kullanım verimliliği, içme suyu tüketimi, barınak temizliği ve soğutma sistemleri için gerekli su miktarları optimize edilerek kıt su kaynaklarının sürdürülebilir kullanımı sağlanır. İklim değişikliğine adaptasyon senaryolarında, artan sıcaklıklar, değişen yağış rejimleri ve ekstrem hava olaylarının sıklığı dikkate alınarak gelecekteki üretim kapasitesi ve kaynak ihtiyaçları modellenir. Irk seçimi, barınak tasarımı ve üretim sistemlerinde gerekli değişiklikler önceden planlanır (Purcell et al., 2023).

Bu bütünsel yaklaşım, dijital ikiz teknolojisini günlük operasyonel kararlardan uzun vadeli stratejik planlamaya kadar tüm süreçlerde etkin kılarak, sektörün sürdürülebilir, rekabetçi ve hayvan refahını merkezine alan bir geleceğe doğru dönüşümünü hızlandırabilir. Çiftlik düzeyinden endüstri düzeyine ölçeklenen dijital ikiz uygulamaları, yalnızca bireysel işletmelerin performansını değil, tüm sektörün sürdürülebilirlik hedeflerine ulaşmasını ve toplumsal beklentilere cevap vermesini destekler. Dijital ikiz teknolojisi, hayvancılığın karbon nötr hale gelmesi, su ve toprak kaynaklarının korunması, hayvan refahının iyileştirilmesi ve gıda güvenliğinin sağlanması gibi küresel hedeflere ulaşmada kritik bir araç olarak konumlanmaktadır.

3.4.Uygulamalı Örnek: Lely T4C ile Süt Çiftliklerinde Dijital İkiz Kullanımı

Modern süt çiftçiliğinde hem üretim verimliliğini artırmak hem de hayvan refahını en üst düzeye çıkarmak giderek daha kritik hale gelmektedir. Bu bağlamda Lely şirketi (<https://www.lely.com/>) tarafından geliştirilen Lely T4C sistemi, dijital ikiz teknolojisinin hayvancılık sektöründeki öncü uygulamalarından biri olarak dikkat çekmektedir. Sistem, her bir inek için dijital bir ikiz oluşturarak sağlık durumu, davranışsal aktiviteler ve süt üretim performansının gerçek zamanlı takibini sağlamaktadır. Boyun tasmalarına ve diğer sensörlere entegre edilen teknolojiler aracılığıyla; hareketler, yem tüketimi, geviş getirme aktivitesi, vücut sıcaklığı ve dinlenme süreleri gibi yaşamsal parametreler sürekli olarak ölçülmekte ve kaydedilmektedir. Toplanan bu çok

boyutlu veriler, makine öğrenmesi algoritmalarıyla analiz edilerek hem bireysel hem de sürü düzeyinde sağlık ve üretim verimi hakkında öngörüler sunmaktadır (Şekil 2) (Marumo et al., 2024).



Şekil 2. Lely Vector otomatik yemleme robotu ve Lely T4C sisteminde süt üretim performansının gerçek zamanlı izlenmesini gösteren panel.

4. Gelecek Perspektifi: Omik Verilerin Dijital İkizlere Entegrasyonu

Tarımsal üretimde dijital dönüşüm süreci, dijital ikiz teknolojilerinin entegrasyonu ile önemli bir ivme kazanmıştır. Ancak sensör odaklı veri altyapılarına dayanan bu dönüşüm, biyolojik sistemlerin karmaşık doğasını yeterince yansıtamamaktadır. Günümüzde genetik, yapay zekâ-makine öğrenmesi algoritmaları ve veri depolama teknolojilerindeki gelişmeler sayesinde, omik verilerin dijital ikiz sistemlerine entegrasyonu yönünde umut verici ilerlemeler kaydedilmektedir.

4.1. Genomik Veri Entegrasyonu

Günümüzde hayvancılığın dijital dönüşümünde, dijital ikizlerin yalnızca sensör verileriyle değil, DNA sekans verileriyle de desteklenmesi giderek daha mümkün hale gelmektedir. Oxford Nanopore MinION gibi taşınabilir DNA dizi

analiz cihazları (Şekil 3), düşük geçişli (low-pass) tüm genom sekanslama ve imputasyon yaklaşımları ile çiftlik ortamında hızlı genotiplendirme için pratik çözümler sunmaktadır (H. J. Lamb, Hayes, Nguyen, & Ross, 2020). Brahman ırkı büyükbaş hayvanlarda gerçekleştirilen saha içi genotipleme çalışmalarında, %89–97 doğruluk oranıyla genomik değerlendirme yapılabileceğini gösterilmiştir (H. J. Lamb, 2023).



Şekil 3. Oxford Nanopore MinION taşınabilir sekanslama cihazı

Bu tür DNA düzeyinde verinin dijital ikize aktarılması birçok avantajı beraberinde getirecektir. Genetik potansiyelin doğumdan itibaren dijital ikize yansıtılması, verim, hastalık direnci ve adaptasyon kapasitesi gibi özelliklerin erken öngörülmesi için zemin hazırlayacaktır. Genotip-fenotip-çevre etkileşiminin dinamik modellere dönüştürülmesi, böylece bireye özel besleme, bakım ve ıslah senaryolarının simülasyonu gerçekleştirilebilecektir.

Ayrıca, Nanopore sekanslama sadece evrimsel olarak önceden tanımlı SNP'leri değil, örneğin viral veya bakteriyel DNA içeriklerini de analiz edebildiğinden, entegre moleküler patojen taraması ve genotiplendirme çözümleri de mümkündür (H. Lamb et al., 2023). Bu yaklaşım, çiftlikteki genetik ıslah yönetimi ile sağlık yönetimi arasındaki geleneksel duvarı kaldırır. Tek bir analizle hem bir hayvanın genetik potansiyeli hem de o anki sağlık tehditleri hakkında veri üretilerek, sürü yönetiminde tamamen yeni bir hassasiyet ve öngörü seviyesi elde edilmesine olanak tanır.

Buna ek olarak mikroakışkan sistemleri (lab-on-a-chip) (Yin et al., 2025; J. Zhao et al., 2025) veya PCR-LFD gibi hızlı SNP tespit platformları (Jiang et al.,

2025), belirli genetik lokusların çiftlikte hızlı test edilmesi açısından umut vaat etmektedir.

4.2. Transkriptomik Veri Entegrasyonu

Geleneksel genomik veriler (örn. SNP'ler, genotip haritaları, genom çapında ilişkilendirme analizleri), hayvanların potansiyel fizyolojik kapasitesini tanımlamada uzun süredir vazgeçilmez bir kaynak olmuştur. Ancak bu katı, statik katman, yalnızca uzun vadeli fenotipik eğilimleri ve kalıtsal yatkınlıkları yansıtabilir. Organizmanın çevresel değişimlere, stres faktörlerine veya patojen baskısına verdiği dinamik biyolojik yanıtları doğrudan yakalayamaz. Bu noktada transkriptomik veriler canlı sistemlerin anlık durumlarını, tepkisel mekanizmalarını ve adaptif değişimleri yüksek çözünürlükle haritalama kapasitesine sahiptir (Shashank et al., 2024; Wadood et al., 2025).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, özellikle periferik kan hücrelerinden elde edilen transkriptomik verilerin, sıcaklık stresi, enfeksiyonlar ve metabolik bozukluklar gibi çevresel ve patolojik etmenlere karşı moleküler düzeydeki yanıtları başarıyla ortaya koyduğunu göstermektedir. Örneğin, sığırlarda farklı ırkların ısı şok proteinleri ve stresle ilişkili transkriptleri farklı düzeylerde regüle etmesi, sıcaklık toleransının gen ekspresyon desenini modellenebileceğini ve bu biyomarker setlerinin dijital ikiz sistemlerine doğrudan entegre edilebileceğini göstermektedir (Adkins, Moisa, Beever, & Lear, 2024; G. Dutta et al., 2024; Gelgie et al., 2025; Shashank et al., 2024).

Son yıllarda RNA sekanslama teknolojilerinde yaşanan ilerlemeler, biyolojik sistemlerin anlaşılmasını önemli ölçüde artırmıştır. Özellikle, Oxford Nanopore Technologies tarafından geliştirilen doğrudan RNA sekanslama, klasik yöntemlerde gerekli olan ters transkripsiyon adımlarını ortadan kaldırarak (cDNA sentezlemeden) RNA moleküllerinin gerçek zamanlı, tam uzunluklu ve yüksek çözünürlükle analiz edilmesini mümkün kılmaktadır. Bu yaklaşım, yalnızca gen ekspresyon düzeylerini değil, aynı zamanda alternatif ekson kullanımı, izoform çeşitliliği ve uzun kodlanmayan RNA'ların dinamiklerini de doğrudan ortaya koyabilmektedir (Katopodi, Begik, & Novoa, 2025; Sun et al., 2025; van der Toorn et al., 2025).

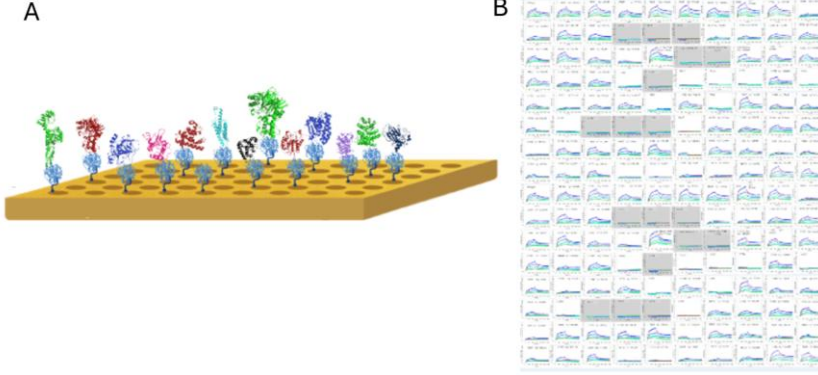
Nanopore tabanlı teknolojilerin en dikkat çekici yönlerinden biri, epitranskriptomik düzenleyici işaretlerin doğrudan tespitine olanak tanımasıdır. Örneğin m6A ve m5C gibi RNA modifikasyonlarının saptanabilmesi, yalnızca genlerin ne düzeyde ifade edildiğini değil, aynı zamanda bu transkriptlerin işlevsel kaderini belirleyen ince ayar mekanizmalarını da görünür kılmaktadır. Böylelikle transkriptomik analiz, yalnızca kantitatif bir okuma olmaktan çıkmakta ve fonksiyonel biyolojinin kritik katmanlarını da kapsayan bütüncül bir yaklaşım haline gelmektedir (Y. Li et al., 2025; Sun et al., 2025).

Nanopore tabanlı doğrudan RNA sekanslamanın saha koşullarında da uygulanabilir hale gelmesi, çiftlik ortamında hayvanların biyolojik yanıtlarının anlık olarak izlenmesini mümkün kılacaktır. Bu gelişmeler hem temel araştırmalarda hem de tarımsal üretim sistemlerinde biyoinformatik temelli karar destek mekanizmalarının güçlendirilmesi açısından çığır açıcı bir potansiyel sunmaktadır. Çiftlik ortamında bile belirli gen ekspresyon panellerinin ölçülmesi mümkün olduğunda, bu verilerin dijital ikize aktarılmasıyla, stres, enfeksiyon veya metabolik dengesizliklerin erken uyarı sinyalleri, sensör verileriyle entegre biçimde tahmin edilebilir. Çevresel faktörlerin (sıcaklık, nem, beslenme vb.) moleküler etkileri gerçek zamanlı simülasyonlara eklenebilir. Bireysel adaptasyon kapasitesi, sadece genotipik potansiyele değil, güncel biyolojik yanıt dinamiklerine göre öngörülebilir. Islah stratejileri, gen ekspresyon desenlerine dayalı daha hassas seçim ve yönlendirmelerle desteklenebilir.

4.3. Proteomik Veri Entegrasyonu

Genetik ve transkriptomik veriler hayvanların potansiyelini ve genetik yanıtlarını ortaya koyarken, proteomik veriler hücresel düzeydeki işlevsel çıktıyı, yani gerçek biyolojik süreçlerin nihai yansımalarını temsil eder. Protein miktarı, modifikasyonları ve etkileşim ağları, fizyolojik durumun en doğrudan göstergelerinden biridir. Bu nedenle proteomik verilerin dijital ikizlere entegrasyonu, fenotipik sensör verileri ile moleküler biyolojinin fonksiyonel çıktılarının köprülenmesini mümkün kılacaktır.

Son yıllarda proteomik biyosensörlerdeki gelişmeler, saha koşullarında veri elde edilmesini sağlayacak gelişmelere öncülük etmektedir (Agu et al., 2025; Comstock et al., 2024; L. Guo et al., 2024). Örneğin Sensor-Integrated Proteome On Chip (SPOC) platformu (Şekil 4), çok sayıda tam boy ve fonksiyonel proteinin tek bir çip üzerinde yüksek yoğunlukta immobilize edilmesine imkân vererek protein-protein etkileşimlerinin hem niteliksel hem de niceliksel analizi yapılabilmesini sağlar. Bu sistem, bağlanma hızı ve afinite gibi kinetik parametreleri de eş zamanlı ölçebilmesiyle, klasik yöntemlere kıyasla daha hızlı ve düşük maliyetli geniş ölçekli veri üretebilme kapasitesine sahiptir (Agu et al., 2024, 2025; Martelly et al., 2025). Bununla birlikte SPOC teknolojisinin hâlen laboratuvar ölçeğinde test edildiği, saha koşullarında ise numune karmaşıklığı ve veri standardizasyonu gibi zorluklarla karşılaşabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.



Şekil 4. Sensor-Integrated Proteome On Chip (SPOC) teknolojisinin çalışma prensibi. (A) Katlanmış haldeki 384'ten 2.400'e kadar farklı proteinin, yaklaşık 1,5 cm² yüzeye sahip SPR (Surface Plasmon Resonance) biyosensör çipi üzerine saflaştırılarak immobilize edilmesi. (B) Yüksek verimli SPR bağlanma analizi sayesinde her bir proteine özgü yüksek çözünürlüklü kinetik verilerin elde edilmesi. Bu yaklaşım, protein-biyomolekül etkileşimlerinin eş zamanlı, kantitatif ve kinetik olarak değerlendirilmesine olanak tanır (Agu et al., 2025).

Benzer şekilde, hızlı bağlanma-ayırışma kinetiğine sahip antikorlar (fast-dissociating antibody) tabanlı sürekli protein sensörleri, antijen-antikor etkileşimlerinin hızlı bağlanma ve ayırışma kinetiğinden yararlanarak gerçek zamanlı biyobelirteç ölçümü yapabilme potansiyeli sunmaktadır. Yüzey plazmon rezonansı veya elektrokimyasal platformlarla entegre edilerek taşınabilir sistemler hâline getirilebilen bu sensörler, kan, süt veya tükürük gibi biyolojik sıvılarda test edilmiştir. Ancak, karmaşık biyolojik örneklerde spesifik olmayan bağlanma ve matris etkileri nedeniyle ek yüzey modifikasyonları ve numune hazırlama adımları gerekebilmektedir. Bu da saha uygulamalarında önemli bir sınırlılık oluşturmaktadır (Donnelly et al., 2025; Michielsen, Lin, Yan, de Jong, & Prins, 2025).

Proteomik entegrasyonda bir diğer yaklaşım ise mikroakışkan sistemler (Lab-on-a-Chip) kullanımıdır. Mikrometre ölçeğindeki kanallar aracılığıyla sıvıların hassas bir şekilde yönlendirilmesini, karıştırılmasını ve reaksiyonlara sokulmasını sağlayan bu platformlar, pompalar, valfler ve sensörlerle entegre edilerek numune hazırlama, ayırma ve algılama adımlarını otomatikleştirebilir. Küçük ölçek, reaktif tüketimini azaltmanın yanı sıra yüzey/hacim oranını artırarak biyokimyasal süreçlerde daha hızlı yanıt alınmasını kolaylaştırır. Bununla birlikte kabarcık oluşumu, tıkanma ve yüzey etkileşimlerinden kaynaklanan sinyal kayıpları gibi teknik sorunlar, biyolojik numunelerle çalışırken önemli engeller oluşturmaktadır (Dietsche, 2024; Marchoom-Bura et al., 2025; Schneider, Knowles, Keller, & Krainer, 2025; C. Xu et al., 2024; D.

Zhang & Qiao, 2024; Zhou, Dong, Hou, Huang, & Li, 2024). Yine de mikroakışkan sistemlerin hassas akış kontrolü ve yüksek entegrasyon kapasitesi, biyosensör teknolojileri ve Organ-on-a-Chip modellerinde gerçek zamanlı ölçüm ve sürekli izleme için kritik bir avantaj sunmaktadır. Bu da dijital ikiz uygulamaları ve ileri biyomedikal araştırmalar için güçlü bir altyapı hazırlamaktadır.

Gelecekte saha uyumlu proteomik analiz sistemlerinin gelişmesiyle, çiftlik ortamında belirli protein panellerinin ölçülmesi mümkün olacaktır. Bu tür verilerin dijital ikizlere entegrasyonu, yalnızca hastalık biyobelirteçlerinin erken tespitine ve veteriner müdahalelerinin proaktif hâle gelmesine değil, aynı zamanda beslenme yönetiminin ve stres/bağıışıklık yanıtlarının gerçek zamanlı modellenmesine olanak tanıyacaktır. Böylece proteomik veriler, genomik ve transkriptomik katmanların sunduğu öngörüü tamamlayarak hayvanın işlevsel biyolojisinin anlık yansımısını sağlayacaktır.

4.4. Metabolomik Veri Entegrasyonu

Genomik, transkriptomik ve proteomik düzeyde elde edilen veriler hayvanların potansiyel biyolojik kapasitesini ve işlevsel çıktılarının bir kısmını ortaya koyarken, metabolomik veriler bu sürecin en uç noktasında, hücresel metabolizmanın gerçek zamanlı ürünlerini ve ara basamaklarını temsil eder. Metabolomik, hücresel süreçlerin son ürünleri olan metabolitlerin (ör. aminoasitler, lipitler, organik asitler) kapsamlı analizini içerir ve hayvanın fizyolojik durumunu en hızlı yansıtan biyomoleküler düzey olarak öne çıkar (Xiong, Li, Ouyang, Qu, & Qiu, 2025). Bu nedenle, metabolomik verilerin dijital ikizlere entegrasyonu, hayvanların sağlık, beslenme ve çevresel streslere yanıtlarını anlık biyokimyasal göstergeler üzerinden modelleme imkânı sağlayacaktır.

Güncel çalışmalarda, süt sığırlarında mastitis, ketozis veya rumen asidozu gibi metabolik bozuklukların kan, süt veya rumen sıvısı metabolom profilleri ile erken teşhis edilebildiği gösterilmiştir (Du et al., 2024; Kong et al., 2025; M. Li et al., 2024; Tufarelli, Puvača, Glamočić, Pugliese, & Colonna, 2024; Yu et al., 2025). Yine sıcaklık stresi altında plazma metabolit düzeylerindeki değişiklikler, ırklar arası adaptasyon farklılıklarını ortaya koymaktadır (Habimana et al., 2023; Zeng et al., 2024).

Gelecekte, çiftlik uyumlu metabolomik sensör teknolojileri (örneğin taşınabilir NMR spektroskopisi, mikroakışkan tabanlı metabolit biyosensörleri veya non-invaziv süt/tükürük testleri) sayesinde hayvanlardan gerçek zamanlı metabolit ölçümü yapılabilecektir (Abdi et al., 2024; Baumgarten, 2024; Brinson, 2021; Calixto et al., 2025; Liu et al., 2024; H. Wang & Wu, 2025; X. Zhao et al., 2025).

Metabolomik verilerin dijital ikizlere entegrasyonu, gelecekte tarım ve hayvancılıkta sağlık, beslenme ve verimlilik yönetimini kökten dönüştürebilecek bir yaklaşım olarak görülmektedir. Saha uyumlu hızlı metabolomik analiz sistemleri sayesinde, çiftlik ortamında dahi belirli metabolit panelleri gerçek zamanlı olarak ölçülebilecek ve bu veriler doğrudan dijital ikizlere entegre edilebilecektir. Böylece, enerji metabolizmasıyla ilişkili anahtar metabolitlerin izlenmesi, süt verimindeki düşüşleri öngörebilecek, oksidatif stres göstergeleri hayvan refahını daha hassas biçimde değerlendirmeye imkân tanıyacak ve bağırsak mikrobiyom kökenli metabolitlerin takibi, beslenme optimizasyonunu kişiselleştirilmiş düzeye taşıyabilecektir. Yapay zekâ destekli dijital ikiz modelleri, bu verilerden öğrenerek sadece mevcut durumu yansıtmakla kalmayacak, aynı zamanda metabolik hastalıkların erken tahminini ve önlenmesini sağlayacaktır. Dolayısıyla, metabolomik katmanın entegrasyonu, dijital ikizleri çok katmanlı omik verilere dayalı, öngörücü ve biyolojik olarak daha gerçekçi bir karar destek sistemine dönüştürme yolunda kritik bir adım olarak değerlendirilebilir.

4.5. Dijital İkizler Arası Etkileşim ve Kolektif Öğrenme

Gelecekte dijital ikizlerin gelişimi, yalnızca bireysel hayvanların veya tekil çiftliklerin modellenmesi ile sınırlı kalmayıp, çok katmanlı ve kolektif bir ekosistem anlayışına doğru evrilecektir. “Sürü dijital ikizleri” yaklaşımı, tek tek hayvanların dijital ikizlerinin bulut tabanlı altyapılarda birleşerek sürü düzeyinde bir “kolektif ikiz” oluşturmasını mümkün kılar. Böyle bir yapı, sürü davranış kalıplarını, sosyal etkileşimleri ve kaynak paylaşımını sürekli öğrenen ve optimize eden dinamik bir sistem yaratacaktır (Marcillo, Bahsoon, Tziritas, & Theodoropoulos, 2025; San, Pawar, & Rasheed, 2022, 2023).

Bireysel ikizlerin yalnızca kendi verileriyle sınırlı kalmayıp birbirleriyle iletişim kurması, ikizler arası iletişim fikrini ortaya çıkarmaktadır. Farklı çiftliklerdeki dijital ikizler, sağlık trendlerini, besleme stratejilerini veya çevresel adaptasyon verilerini paylaşarak ortak bir bilgi havuzu oluşturabilir (Marcillo et al., 2025). Örneğin, sıcak iklimde adaptasyon göstermiş bir sürünün ikizi, elde ettiği deneyimi soğuk iklim koşullarında olan başka bir sürü ikizine aktararak küresel ölçekte dayanıklılık stratejilerinin geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

Bu sürecin daha ileri bir boyutu, kolektif öğrenme olarak tanımlanabilir. Farklı çiftliklerdeki dijital ikizler, verilerin gizliliğini koruyarak merkezi olmayan bir yapay zekâ sistemine katkı sağlar. Böylece her çiftlik yalnızca kendi deneyimlerinden değil, dünya genelindeki diğer çiftliklerin deneyimlerinden de faydalanabilir. Bu yöntem, hem büyük veri setlerinin avantajlarını hem de yerel veri mahremiyetinin korunmasını aynı anda sağlayan yeni nesil bir makine öğrenmesi yaklaşımı sunar (Marcillo et al., 2025; San et al., 2022).

Kolektif öğrenme süreci aynı zamanda tahmine dayalı senaryo paylaşımını mümkün kılar. Belirli bir çiftlikte simüle edilen yem rasyonu, ilaç uygulaması veya aşılama stratejisinin uzun vadeli etkileri, diğer çiftliklerin dijital ikizleriyle paylaşılabılır. Bu, sahada uygulanmadan önce farklı stratejilerin öngörülebilir sonuçlarını değerlendirmeye imkân tanıyarak kolektif bir karar destek sistemi oluşturur.

Hayvancılıkta dijital ikizlerin bir sonraki aşaması, yalnızca hayvanları değil, çevresel bileşenleri de kapsayan ekosistem dijital ikizleridir. Bu yaklaşımda hayvanların ikizleri, mera, su kaynakları, iklim verileri ve toprak sağlığına ilişkin dijital ikizlerle entegre edilerek çok katmanlı bir ekosistem modeli oluşturulur. Böylelikle sadece sürünün değil, bütün tarım ekosisteminin sürdürülebilirliği dijital ortamda modellenebilir ve optimize edilebilir (T. Lee, Ramp, & Bless, 2025; Tagarakis et al., 2024).

Sürü dijital ikizlerinden elde edilen büyük ölçekli genomik ve fenotipik veriler, nadir genetik varyantların tespit edilmesini ve bu varyantların kaybolmadan ıslah programlarına dahil edilmesini mümkün kılar. Farklı çiftliklerdeki dijital ikizlerin genetik performans verilerini paylaşmasıyla oluşturulan dijital genetik havuzlar, küresel ölçekte sürdürülebilir ıslah stratejilerinin tasarlanmasına zemin hazırlayabilir. Bu sayede yalnızca en yüksek verimliliğe sahip bireylerin seçilmesi değil, aynı zamanda uzun vadede türün adaptif kapasitesini artıracak genetik çeşitliliğin korunması da mümkün olur. Özellikle iklim değişikliği, yeni hastalık tehditleri veya çevresel stres faktörleri karşısında, geniş genetik varyasyona sahip sürüler daha dayanıklı bir gelecek tarımı için kritik rol üstlenebilir. Dijital ikizler, bu süreci sürekli izleyerek hangi genetik hatların korunması gerektiği konusunda karar destek sistemlerine katkı sunabilir.

Bu gelişmelerin nihai vizyonu, kendi kendini optimize eden çiftliklerdir. Dijital ikizler arasındaki sürekli iletişim ve öğrenme, besleme, sağlık yönetimi, genetik seçim ve çevresel etkilerin otonom bir biçimde optimize edildiği sistemlerin oluşmasına zemin hazırlayacaktır. Bu tür çiftlikler, insan müdahalesi minimum düzeyde olan, kendi kendini düzenleyen üretim sistemleri hâline gelebilir.

4.6. Aşılması Gereken Zorluklar

Dijital ikizlerin hayvancılığa entegrasyonu bazı teknik zorlukları da beraberinde getirir. Farklı sensör türlerinden (termal kameralar, ivmeölçerler, rumen sensörleri, GPS modülleri) gelen verilerin uyumlu hale getirilmesi ve veri standardizasyonu sistemler arası birlikte çalışabilirlik açısından kritik bir sorundur. Her üreticinin farklı veri formatları ve iletişim protokolleri kullanması entegrasyon sürecini zorlaştırmaktadır.

Genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik analizlerin üretim maliyetleri hâlâ oldukça yüksektir ve çiftlik koşullarında rutin ve geniş ölçekli şekilde veri elde edilmesini sınırlamaktadır. Bunun yanı sıra, omik verilerin farklı platformlarda, farklı kalite standartlarında ve farklı formatlarda üretilmesi, veri heterojenliği sorununu doğurmaktadır. Bu durum, elde edilen bilgilerin doğrudan karşılaştırılması, bütünleştirilmesi ve standart bir dijital ikiz altyapısına aktarılmasını güçleştirmektedir (Wadood et al., 2025).

Veri depolanması ve işlenmesi de önemli bir engeldir. Kırsal alanlardaki sınırlı internet altyapısı ve düşük bant genişliği, gerçek zamanlı veri aktarımını zorlaştırmakta ve sistemin tepki süresini olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle 5G teknolojisinin yaygınlaştırılması ve uç bilişim (edge computing) çözümlerinin geliştirilmesi önem kazanmaktadır. Uç bilişim, verilerin bulut sunuculara gönderilmeden önce çiftlik içinde ön işleminden geçirilmesini sağlayarak gecikme süresini azaltır ve bant genişliği gereksinimini düşürür. Ayrıca, tarımsal verilerin hassas doğası, mülkiyet hakları (genetik bilgiler, üretim performansı, ekonomik göstergeler) ve etik sorunlar güçlü siber güvenlik önlemlerini ve veri gizliliği politikalarını zorunlu kılmaktadır. Özellikle bulut tabanlı sistemlerde veri şifreleme, erişim kontrolü ve düzenli güvenlik denetimleri kritik önem taşır (Kalyani, Bermeo, & Collier, 2023; Neethirajan, 2025; Van Der Burg, Kloppenburg, Kok, & Van Der Voort, 2021; R. Zhang et al., 2025).

Bununla birlikte, biyolojik sistemlerin çok katmanlı ve dinamik doğası da metodolojik açıdan önemli bir zorluk oluşturmaktadır. Genom, transkriptom, proteom, metabolom ve mikrobiyom verilerinin fenotipik çıktılarla doğru şekilde ilişkilendirilmesi hâlâ tam anlamıyla çözülememiş bir konudur. Bu nedenle, yapay zekâ ve makine öğrenmesi temelli modelleme yaklaşımları öne çıksa da, çok katmanlı verilerin entegrasyonu sırasında modellerin güvenilirliği ve açıklanabilirliği sınırlı kalmaktadır (Mohr et al., 2024). Laboratuvar ortamında geliştirilen biyosensörlerin ve omik tabanlı ölçüm teknolojilerinin sahaya, yani çiftlik koşullarına güvenilir şekilde uyarlanabilmesi için mühendislik açısından da çözülmesi gereken problemler bulunmaktadır.

Dijital ikizlerin ekonomik etkileri kısa vadeli yatırımlar ve uzun vadeli getiriler açısından dengeli bir şekilde değerlendirilmelidir. Başlangıç yatırımları arasında, sensör ve donanım maliyetleri, yazılım lisansları ve bulut depolama ücretleri, altyapı iyileştirmeleri (internet bağlantısı, ağ ekipmanları) ile personel eğitimi ve danışmanlık hizmetleri yer alır. Buna karşılık uzun vadede su, yem ve gübre gibi girdilerde tasarruf, süt verimi veya et kalitesi gibi çıktılarda artış, hastalık kaynaklı kayıplarda azalma, iş gücü verimliliğinde artış ve operasyonel maliyetlerde düşüş sağlanabilmektedir (Si, 2024; Symeonaki et al., 2024; Tagarakis et al., 2024).

Sonuç olarak, omik verilerin dijital ikizlere entegrasyonu teknik, ekonomik, biyolojik ve etik açılardan çeşitli engellerle karşı karşıyadır. Bu engellerin aşılabilmesi için disiplinler arası iş birliklerinin artırılması, yeni nesil biyosensörlerin geliştirilmesi, daha erişilebilir hesaplama ve depolama altyapılarının kurulması ve uluslararası düzeyde veri standartlarının benimsenmesi kritik bir gereklilik olarak öne çıkmaktadır.

REFERANSLAR

- Abbas, M., Abbas, G., Jaffery, S., Chuanqiang, Z., Yunxia, L., Gaoping, Z., . . . Xihe, L. (2025). Smart dairy farming: enhanced efficiency, productivity and animal welfare through the internet of things and cloud integration. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 35(1).
- Abdi, G., Chhabra, N., Shiriskar, J., Srinivasan, G., Dhariwal, R., & Jain, M. (2024). Microfluids in Metabolites Detection, Production, and Optimization *Advances in Metabolomics* (pp. 219-255): Springer.
- Adkins, M., Moisa, S., Beever, J., & Lear, A. (2024). Targeted Transcriptome Analysis of Beef Cattle Persistently Infected with Bovine Viral Diarrhea Virus. *Genes*, 15(12), 1500.
- Adrion, F., Kapun, A., Eckert, F., Holland, E.-M., Staiger, M., Götz, S., & Gallmann, E. (2018). Monitoring trough visits of growing-finishing pigs with UHF-RFID. *Computers and Electronics in Agriculture*, 144, 144-153.
- Agu, C. V., Cook, R. L., Martelly, W., Gushgari, L. R., Mohan, M., & Takulapalli, B. (2024). Novel sensor-integrated proteome on chip (SPOC) platform with thousands of folded proteins on a 1.5 sq-cm biosensor chip to enable high-throughput real-time label-free screening for kinetic analysis. *bioRxiv*.
- Agu, C. V., Cook, R. L., Martelly, W., Gushgari, L. R., Mohan, M., & Takulapalli, B. (2025). Multiplexed proteomic biosensor platform for label-free real-time simultaneous kinetic screening of thousands of protein interactions. *Communications Biology*, 8(1), 468.
- Arulmozhi, E., Deb, N. C., Tamrakar, N., Kang, D. Y., Kang, M. Y., Kook, J., . . . Kim, H. T. (2024). From Reality to Virtuality: Revolutionizing Livestock Farming Through Digital Twins. *Agriculture*, 14(12), 2231.
- Basak, J. K., Arulmozhi, E., Khan, F., Okyere, F. G., Park, J., & Kim, H. T. (2020). Modeling of ambient environment and thermal status relationship of pig's body in a pig barn. *Indian Journal of Animal Research*, 54(8), 1049-1054.
- Baumgarten, G. (2024). *Development and characterization of a portable NMR probe for the monitoring of water quality and for the study of the kinetics of chemical reactions*. Université de Strasbourg.
- Beaver, A., & Rutter, S. M. (2023). Precision livestock farming technologies for dairy and beef production *Cattle Welfare in Dairy and Beef Systems: A New Approach to Global Issues* (pp. 297-321): Springer.
- Berckmans, D. (2017). General introduction to precision livestock farming. *Animal Frontiers*, 7(1), 6-11.

- Brinson, R. G. (2021). Practical applications of nmr to solve real-world problems (Vol. 26, pp. 7091): MDPI.
- Brown-Brandl, T. M., & Tao, J. (2025). Asas-nanp symposium: mathematical modeling in animal nutrition: Harnessing Real-Time Data and Digital Twins for Precision Livestock Farming. *Journal of Animal Science*, skaf138.
- Calixto, P. S., Ferraz, F. C., Dutra, G. C., Pelozzo, M. J. B., Trovão, M. E., Rego, F. G. d. M., . . . Sari, M. H. M. (2025). Exploring Saliva as a Sample for Non-Invasive Glycemic Monitoring in Diabetes: A Scoping Review. *Biomedicines*, 13(3), 713.
- Cesco, S., Sambo, P., Borin, M., Basso, B., Orzes, G., & Mazzetto, F. (2023). Smart agriculture and digital twins: Applications and challenges in a vision of sustainability. *European Journal of Agronomy*, 146, 126809.
- Comstock, W. J., Navarro, M. V., Maybee, D. V., Rho, Y., Wagner, M., Wang, Y., & Smolka, M. B. (2024). Proteomic Sensors for Quantitative, Multiplexed and Spatial Monitoring of Kinase Signaling. *bioRxiv*, 2024.2012. 2016.628391.
- Das, D., Roy, S., & Sahoo, B. (2025). Impact of IoT-Based Remote Monitoring on Smart Farming and Livestock Tracking *Internet of Things and Analytics for Agriculture, Volume 4* (pp. 191-216): Springer.
- Dietsche, C. (2024). *Microfluidic systems for quantitative analysis of secreted proteins at the single-cell level*. ETH Zurich.
- Donnelly, J. M., Neff, R. A., Sedlack, A. J., Juska, V. B., Ayala-Cardona, L. F., Bass, J., . . . Kimchi, E. Y. (2025). From reactive to proactive: Continuous protein monitoring for preventive health care. *science*, 389(6767), eady6497.
- Du, C., Zhao, X., Zhang, S., Chu, C., Zhang, X., & Teng, Z. (2024). Milk metabolite profiling of dairy cows as influenced by mastitis. *Frontiers in Veterinary Science*, 11, 1475397.
- Dutta, D., Natta, D., Mandal, S., & Ghosh, N. (2022). MOOnitor: An IoT based multi-sensory intelligent device for cattle activity monitoring. *Sensors and actuators A: Physical*, 333, 113271.
- Dutta, G., Alex, R., Singh, A., Gowane, G. R., Vohra, V., De, S., . . . Ludri, A. (2024). Functional transcriptome analysis revealed upregulation of MAPK-SMAD signalling pathways in chronic heat stress in crossbred cattle. *International Journal of Biometeorology*, 68(7), 1371-1385.
- Escribà-Gelonch, M., Liang, S., van Schalkwyk, P., Fisk, I., Long, N. V. D., & Hessel, V. (2024). Digital twins in agriculture: orchestration and applications. *Journal of agricultural and food chemistry*, 72(19), 10737-10752.

- Fuller, A., Fan, Z., Day, C., & Barlow, C. (2020). Digital twin: enabling technologies, challenges and open research. *IEEE access*, 8, 108952-108971.
- Gelgie, A. E., Gelalcha, B. D., Freeman, T., Ault-Seay, T. B., Beever, J., & Dego, O. K. (2025). Whole transcriptome analysis of *Mycoplasma bovis*-host interactions under in vitro and in vivo conditions. *Veterinary Microbiology*, 303, 110426.
- Gómez, Y., Stygar, A. H., Boumans, I. J., Bokkers, E. A., Pedersen, L. J., Niemi, J. K., . . . Llonch, P. (2021). A systematic review on validated precision livestock farming technologies for pig production and its potential to assess animal welfare. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 660565.
- Grieves, M., & Vickers, J. (2016). Digital twin: Mitigating unpredictable, undesirable emergent behavior in complex systems *Transdisciplinary perspectives on complex systems: New findings and approaches* (pp. 85-113): Springer.
- Guo, L., Zhao, Y., Huang, Q., Huang, J., Tao, Y., Chen, J., . . . Liu, H. (2024). Electrochemical protein biosensors for disease marker detection: progress and opportunities. *Microsystems & Nanoengineering*, 10(1), 65.
- Guo, R., Dai, Y., & Hu, J. (2025). Research on the prediction model of mastitis in dairy cows based on time series characteristics. *Frontiers in Veterinary Science*, 12, 1575525.
- Gupta, S., Nirmala, T. V., Reddy, A. D., & Kumar, D. (2024). Smart Livestock Farming: Monitoring and Health Management through IoT *Agriculture 4.0* (pp. 202-223): CRC Press.
- Habimana, V., Nguluma, A. S., Nziku, Z. C., Ekine-Dzivenu, C. C., Morota, G., Mrode, R., & Chenyambuga, S. W. (2023). Heat stress effects on milk yield traits and metabolites and mitigation strategies for dairy cattle breeds reared in tropical and sub-tropical countries. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1121499.
- Hajnal, É., Kovács, L., & Vakulya, G. (2022). Dairy cattle rumen bolus developments with special regard to the applicable artificial intelligence (AI) methods. *Sensors*, 22(18), 6812.
- Han, C. S., Kaur, U., Bai, H., Dos Reis, B. R., White, R., Nawrocki, R. A., . . . Priya, S. (2022). Invited review: Sensor technologies for real-time monitoring of the rumen environment. *Journal of dairy science*, 105(8), 6379-6404.
- Hasan, M., Mun, H., AMpode, K., Lagua, E., Park, H., Kim, Y., . . . Yang, C. (2024). A Systematic Literature Review on the Uses Benefits Challenges and Prospects of Digital Twins in Livestock Farm Management. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 12(12), 2301-2314.

- Huang, L., Li, S., Zhu, A., Fan, X., Zhang, C., & Wang, H. (2018). Non-contact body measurement for qinchuan cattle with LiDAR sensor. *Sensors*, 18(9), 3014.
- Iranshahi, K., Brun, J., Arnold, T., Sergi, T., & Müller, U. C. (2025). Digital twins: Recent advances and future directions in engineering fields. *Intelligent Systems with Applications*, 26, 200516.
- Jannat, A., Johnson, A., & Manriquez, D. (2025). Air quality monitoring in dairy farms: Description of air quality dynamics in a tunnel-ventilated housing barn and milking parlor of a commercial dairy farm. *Journal of dairy science*.
- Jiang, J., Zhang, X., Xiong, P., Huang, X., Zheng, K., Jiang, Y., . . . Shan, H. (2025). Rapid SNP genotyping detection method based on PCR-lateral flow dipstick detection technique. *Scientific Reports*, 15(1), 29964.
- Jones, D., Snider, C., Nassehi, A., Yon, J., & Hicks, B. (2020). Characterising the Digital Twin: A systematic literature review. *CIRP journal of manufacturing science and technology*, 29, 36-52.
- Kalyani, Y., Bermeo, N. V., & Collier, R. (2023). Digital twin deployment for smart agriculture in Cloud-Fog-Edge infrastructure. *International Journal of Parallel, Emergent and Distributed Systems*, 38(6), 461-476.
- Kate, M., & Neethirajan, S. (2025). Giving Cows a Digital Voice—AI-Enabled Bioacoustics and Smart Sensing in Precision Livestock Management.
- Katopodi, X.-L., Begik, O., & Novoa, E. M. (2025). Toward the use of nanopore RNA sequencing technologies in the clinic: challenges and opportunities. *Nucleic acids research*, 53(5), gkaf128.
- Kong, F., Wang, S., Zhang, Y., Li, C., Dai, D., Guo, C., . . . Bi, Y. (2025). Rumen microbiome associates with postpartum ketosis development in dairy cows: a prospective nested case–control study. *Microbiome*, 13(1), 69.
- Kritzinger, W., Karner, M., Traar, G., Henjes, J., & Sihn, W. (2018). Digital Twin in manufacturing: A categorical literature review and classification. *Ifac-PapersOnline*, 51(11), 1016-1022.
- Lamb, H., Nguyen, L., Briody, T., Ambrose, R. K., Hayes, B., Mahony, T., & Ross, E. (2023). Skim-Nanopore sequencing for routine genomic evaluation and bacterial pathogen detection in cattle. *Animal Production Science*, 63(11), 1074-1085.
- Lamb, H. J. (2023). On-farm genotyping to accelerate genetic gain in Australia's northern beef industry.
- Lamb, H. J., Hayes, B. J., Nguyen, L. T., & Ross, E. M. (2020). The future of livestock management: a review of real-time portable sequencing applied to livestock. *Genes*, 11(12), 1478.

- Lee, M., & Seo, S. (2021). Wearable wireless biosensor technology for monitoring cattle: A review. *Animals*, 11(10), 2779.
- Lee, T., Ramp, D., & Bless, A. (2025). Unlocking digital twin planning for grazing industries with farmer centred design. *Agriculture and Human Values*.
- Li, M., Li, Z., Deng, M., Liu, D., Sun, B., Liu, J., . . . Guo, Y. (2024). Overview of bovine mastitis: application of metabolomics in screening its predictive and diagnostic biomarkers. *Animals*, 14(15), 2264.
- Li, Y., Meng, S. C., Wang, Y., Platnich, C. M., Earle, M. K., Mylona, E., . . . Keyser, U. F. (2025). Nanopore detection of single-nucleotide RNA mutations and modifications with programmable nanolatches. *Nature Nanotechnology*, 1-9.
- Liu, Z., Zhou, Y., Lu, J., Gong, T., Ibáñez, E., Cifuentes, A., & Lu, W. (2024). Microfluidic biosensors for biomarker detection in body fluids: a key approach for early cancer diagnosis. *Biomarker Research*, 12(1), 153.
- Lv, L., Li, Q., & Li, D. (2025). *Digital Twin-Driven Research on Beef Cattle Growth Prediction*. Paper presented at the 2025 5th International Conference on Artificial Intelligence and Industrial Technology Applications (AIITA).
- Mancuso, D., Castagnolo, G., & Porto, S. M. (2023). Cow behavioural activities in extensive farms: Challenges of adopting automatic monitoring systems. *Sensors*, 23(8), 3828.
- Marchoom-Bura, N., Zelikman, S., Morgenstern, D., Levin, Y., Barbiro-Michaely, E., Banin, E., . . . Gerber, D. (2025). Integrated Microfluidic Platform for Longitudinal Imaging, Functional Assays, and Downstream Proteomics in *C. elegans*. *Small*, e06108.
- Marcillo, C. R. V., Bahsoon, R., Tziritas, N., & Theodoropoulos, G. (2025). *A Connectionist Approach to Federated Digital Twins*. Paper presented at the International Conference on Conceptual Structures.
- Martelly, W., Cook, R. L., Agu, C. V., Gushgari, L. R., Moreno, S., Kesiraju, S., . . . Takulapalli, B. (2025). Real-Time SPR Biosensing to Detect and Characterize Fast Dissociation Rate Binding Interactions Missed by Endpoint Detection and Implications for Off-Target Toxicity Screening. *Biomolecules*, 15(6), 882.
- Marumo, J., Lusseau, D., Speakman, J., Mackie, M., Byar, A., Cartwright, W., & Hambly, C. (2024). Behavioural variability, physical activity, rumination time, and milk characteristics of dairy cattle in response to regrouping. *Animal*, 18(3), 101094.
- Michielsen, C. M., Lin, Y.-T., Yan, J., de Jong, A. M., & Prins, M. W. (2025). Continuous Protein Sensing Using Fast-Dissociating Antibody Fragments in

- Competition-Based Biosensing by Particle Motion. *ACS sensors*, 10(4), 2895-2905.
- Mihai, S., Yaqoob, M., Hung, D. V., Davis, W., Towakel, P., Raza, M., . . . Prasad, R. V. (2022). Digital twins: A survey on enabling technologies, challenges, trends and future prospects. *IEEE Communications Surveys & Tutorials*, 24(4), 2255-2291.
- Mohr, A. E., Ortega-Santos, C. P., Whisner, C. M., Klein-Seetharaman, J., & Jasbi, P. (2024). Navigating challenges and opportunities in multi-omics integration for personalized healthcare. *Biomedicines*, 12(7), 1496.
- Nasirahmadi, A., & Hensel, O. (2022). Toward the next generation of digitalization in agriculture based on digital twin paradigm. *Sensors*, 22(2), 498.
- Neculai-Valeanu, A.-S., Sanduleanu, C., & Porosnicu, I. (2025). From tradition to precision: leveraging digital tools to improve cattle health and welfare. *Frontiers in Veterinary Science*, 12, 1549512.
- Neethirajan, S. (2020). The role of sensors, big data and machine learning in modern animal farming. *Sensing and Bio-Sensing Research*, 29, 100367.
- Neethirajan, S. (2023). Digital phenotyping: a game changer for the broiler industry. *Animals*, 13(16), 2585.
- Neethirajan, S. (2025). Safeguarding digital livestock farming-a comprehensive cybersecurity roadmap for dairy and poultry industries. *Frontiers in Big Data*, 8, 1556157.
- Negri, E., Fumagalli, L., & Macchi, M. (2017). A review of the roles of digital twin in CPS-based production systems. *Procedia manufacturing*, 11, 939-948.
- Nie, L., Berckmans, D., Wang, C., & Li, B. (2020). Is continuous heart rate monitoring of livestock a dream or is it realistic? A review. *Sensors*, 20(8), 2291.
- Patel, S., Shukla, M., Malik, S., Tripathi, S., & Pandya, A. (2024). Biosensors for Detection of Metabolites *Advances in Metabolomics* (pp. 91-109): Springer.
- Pereira, G., Heins, B., O'Brien, B., McDonagh, A., Lidauer, L., & Kicking, F. (2020). Validation of an ear tag-based accelerometer system for detecting grazing behavior of dairy cows. *Journal of dairy science*, 103(4), 3529-3544.
- Provolo, G., Brandolese, C., Grotto, M., Marinucci, A., Fossati, N., Ferrari, O., . . . Riva, E. (2025). An Internet of Things framework for monitoring environmental conditions in livestock housing to improve animal welfare and assess environmental impact. *Animals*, 15(5), 644.
- Purcell, W., & Neubauer, T. (2023). Digital Twins in Agriculture: A State-of-the-art review. *Smart Agricultural Technology*, 3, 100094.

- Purcell, W., Neubauer, T., & Mallinger, K. (2023). Digital Twins in agriculture: challenges and opportunities for environmental sustainability. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 61, 101252.
- Quintana-Ospina, G. A., Alfaro-Wisaquillo, M. C., Oviedo-Rondon, E. O., Ruiz-Ramirez, J. R., Bernal-Arango, L. C., & Martinez-Bernal, G. D. (2023). Data analytics of broiler growth dynamics and feed conversion ratio of broilers raised to 35 d under commercial tropical conditions. *Animals*, 13(15), 2447.
- Rajesh, B., Pavan Kumar, C., & Govind Rajesh, T. (2024). *Connected Livestock: Revolutionizing Cattle Health Monitoring with IoT and Machine Learning*. Paper presented at the International Conference on Computer & Communication Technologies.
- Rao, S., & Neethirajan, S. (2025). Computational Architectures for Precision Dairy Nutrition Digital Twins: A Technical Review and Implementation Framework. *Sensors*, 25(16), 4899.
- Ruchay, A., Kober, V., Dorofeev, K., Kolpakov, V., Gladkov, A., & Guo, H. (2022). Live weight prediction of cattle based on deep regression of RGB-D images. *Agriculture*, 12(11), 1794.
- San, O., Pawar, S., & Rasheed, A. (2022). Decentralized digital twins of complex dynamical systems. *Scientific Reports*, 13.
- San, O., Pawar, S., & Rasheed, A. (2023). Decentralized digital twins of complex dynamical systems. *Scientific Reports*, 13(1), 20087.
- Schneider, M. M., Knowles, T. P., Keller, S., & Krainer, G. (2025). Microfluidics for protein interaction studies: current methods, challenges, and future perspectives. *European Biophysics Journal*, 1-15.
- Shashank, C. G., Sejian, V., Silpa, M. V., Devaraj, C., Madhusoodan, A. P., Rebez, E. B., . . . Dunshea, F. R. (2024). Climate resilience in farm animals: Transcriptomics-based alterations in differentially expressed genes and stress pathways. *BioTech*, 13(4), 49.
- Si, Q. (2024). Advancements in Precision Livestock Farming: Technologies and Applications. *Animal Molecular Breeding*, 14.
- Singh, B., Mal, G., Gautam, S. K., & Mukesh, M. (2019). Metabolomics in livestock sciences *Advances in Animal Biotechnology* (pp. 397-403): Springer.
- Steenefeld, W., Vernooij, J., & Hogeveen, H. (2015). Effect of sensor systems for cow management on milk production, somatic cell count, and reproduction. *Journal of dairy science*, 98(6), 3896-3905.

- Sun, K., Li, J., Che, C., Zhou, X., Ma, G., Mao, L., . . . Chen, Z. (2025). Advances in nanopore direct RNA sequencing and its impact on biological research. *Biotechnology Advances*, 108710.
- Symeonaki, E., Maraveas, C., & Arvanitis, K. G. (2024). Recent advances in digital twins for agriculture 5.0: applications and open issues in livestock production systems. *Applied Sciences*, 14(2), 686.
- Tagarakis, A. C., Benos, L., Kyriakarakos, G., Pearson, S., Sørensen, C. G., & Bochtis, D. (2024). Digital twins in agriculture and forestry: A review. *Sensors*, 24(10), 3117.
- Tang, W., Biglari, A., Ebarb, R., Pickett, T., Smallidge, S., & Ward, M. (2021). A smart sensing system of water quality and intake monitoring for livestock and wild animals. *Sensors*, 21(8), 2885.
- Tangorra, F. M., Buoio, E., Calcante, A., Bassi, A., & Costa, A. (2024). Internet of Things (IoT): Sensors application in dairy cattle farming. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 14(21), 3071.
- Tao, F., Zhang, H., Liu, A., & Nee, A. Y. (2018). Digital twin in industry: State-of-the-art. *IEEE Transactions on industrial informatics*, 15(4), 2405-2415.
- Tian, H., Zhou, X., Wang, H., Xu, C., Zhao, Z., Xu, W., & Deng, Z. (2024). The prediction of clinical mastitis in dairy cows based on milk yield, rumination time, and milk electrical conductivity using machine learning algorithms. *Animals*, 14(3), 427.
- Tortora, M., Pacchiano, F., Ferracioli, S. F., Criscuolo, S., Gagliardo, C., Jaber, K., . . . Tortora, F. (2025). Medical Digital Twin: A Review on Technical Principles and Clinical Applications. *Journal of Clinical Medicine*, 14(2), 324.
- Tufarelli, V., Puvača, N., Glamočić, D., Pugliese, G., & Colonna, M. A. (2024). The most important metabolic diseases in dairy cattle during the transition period. *Animals*, 14(5), 816.
- Van Der Burg, S., Kloppenburg, S., Kok, E. J., & Van Der Voort, M. (2021). Digital twins in agri-food: Societal and ethical themes and questions for further research. *NJAS: Impact in Agricultural and Life Sciences*, 93(1), 98-125.
- van der Toorn, W., Bohn, P., Liu-Wei, W., Olguin-Nava, M., Gribbling-Burrer, A.-S., Smyth, R. P., & von Kleist, M. (2025). Demultiplexing and barcode-specific adaptive sampling for nanopore direct RNA sequencing. *Nature Communications*, 16(1), 3742.
- Wadood, A. A., Bordbar, F., & Zhang, X. (2025). Integrating omics approaches in livestock biotechnology: innovations in production and reproductive efficiency. *Frontiers in Animal Science*, 6, 1551244.

- Wang, H., & Wu, W. (2025). Recent Advancements in Microfluidic Biosensors for Clinical Applications. *iLABMED*.
- Wang, J., Zhang, Y., Wang, J., Zhao, K., Li, X., & Liu, B. (2022). Using machine-learning technique for estrus onset detection in dairy cows from acceleration and location data acquired by a neck-tag. *Biosystems engineering*, 214, 193-206.
- Wu, D., Han, M., Song, H., Song, L., & Duan, Y. (2023). Monitoring the respiratory behavior of multiple cows based on computer vision and deep learning. *Journal of dairy science*, 106(4), 2963-2979.
- Xiong, Z., Li, L., Ouyang, K., Qu, M., & Qiu, Q. (2025). Deciphering Heat Stress Mechanisms and Developing Mitigation Strategies in Dairy Cattle: A Multi-Omics Perspective. *Agriculture*, 15(14), 1477.
- Xu, C., Shi, H., Tan, Z., Zheng, Y., Xu, W., Dan, Z., . . . Zhao, Y. (2024). Generation, manipulation, detection and biomedical applications of magnetic droplets in microfluidic chips. *Analyst*, 149(23), 5591-5616.
- Xu, X., Gao, F., Xiong, D., Fan, Z., Xiong, S., Dong, P., . . . Ma, X. (2025). Digital twin-based winter wheat growth simulation and optimization. *Field Crops Research*, 329, 109953.
- Yin, Q., Yang, Z., Chong, S. W., Li, J., Liu, X., Vigolo, D., . . . Yong, K. T. (2025). Application of microfluidic technologies in veterinary science with a view toward development of animal-on-a-chip models. *View*, 6(1), 20240073.
- Youssef, A., Vodoretzova, K., Aarts, Y., Agbeti, W. E., Palstra, A. P., Foekema, E., . . . Grübel, J. (2024). IUMENTA: A generic framework for animal digital twins within the Open Digital Twin Platform. *arXiv preprint arXiv:2411.10466*.
- Yu, J., Liu, C., Wang, D., Wan, P., Cheng, L., & Yan, X. (2025). Integrated microbiome and metabolome analysis reveals altered gut microbial communities and metabolite profiles in dairy cows with subclinical mastitis. *BMC microbiology*, 25(1), 115.
- Zeng, J., Wang, D., Sun, H., Liu, H., Zhao, F.-Q., & Liu, J. (2024). Heat stress affects mammary metabolism by influencing the plasma flow to the glands. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 15(1), 92.
- Zhang, D., & Qiao, L. (2024). Microfluidics coupled mass spectrometry for single cell multi-omics. *Small Methods*, 8(1), 2301179.
- Zhang, R., Zhu, H., Chang, Q., & Mao, Q. (2025). A Comprehensive Review of Digital Twins Technology in Agriculture. *Agriculture*, 15(9), 903.

- Zhang, Y., Zhang, Y., Gao, M., Wang, X., Dai, B., & Shen, W. (2025). Multimodal behavior recognition for dairy cow digital twin construction under incomplete modalities: A modality mapping completion network approach. *Artificial Intelligence in Agriculture*, 15(3), 459-469.
- Zhang, Z., Zhang, H., & Liu, T. (2019). Study on body temperature detection of pig based on infrared technology: A review. *Artificial Intelligence in Agriculture*, 1, 14-26.
- Zhao, J., Wang, Y., Kamalibieke, J., Gong, P., Zhang, F., Shi, H., . . . Luo, J. (2025). Design and verification of a 25 K multiple-SNP liquid-capture chip by target sequencing for dairy goat. *BMC genomics*, 26(1), 377.
- Zhao, X., Chen, X., Lu, Y., Zhou, Z., Lin, P., Lin, Y., . . . Cui, L. (2025). Saliva metabolomics: a non-invasive frontier for diagnosing and managing oral diseases. *Journal of Translational Medicine*, 23(1), 582.
- Zhou, J., Dong, J., Hou, H., Huang, L., & Li, J. (2024). High-throughput microfluidic systems accelerated by artificial intelligence for biomedical applications. *Lab on a Chip*, 24(5), 1307-1326.