

Fen Bilimleri ve Matematik: Teori, Metodoloji ve Uygulama

**Editör
Prof. Dr. Hüsniye Sağlıker**

Fen Bilimleri ve Matematik:
Teori, Metodoloji ve Uygulama

Editör

Prof. Dr. Hüsniye Sağlıker

İmtiyaz Sahibi Platanus
Publishing®

Editör

Prof. Dr. Hüsniye Sağlıker

Kapak & Mizanpaj & Sosyal Medya
Platanus Yayın Grubu

Birinci Basım

Ekim, 2025

Yayımcı Sertifika No

45813

ISBN

978-625-6517-53-0

©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
Kozmik Genişlemede Karanlık Enerji	
E. Canan Günay Demirel	
BÖLÜM 2.....	21
Küçük GTPazlar ile Epigenetik Faktörler Arasındaki Moleküler İlişkiler	
Didem Turgut Coşan & Ylli Krasniqi	
BÖLÜM 3.....	47
Mikroplastik Stresi Altında Yetiştirilen Fasulye Tohumlarına Ceviz Yeşil Kabuğu Biyokömür Çayı Uygulaması	
Esratur Okuroğlu & Tuğba Özbucak	
BÖLÜM 4.....	61
Sydowia polyspora ile Mücadelede Fungal Endofitlerin İn Vitro Kullanımı: Potansiyel Biyokontrol Ajanlarının Belirlenmesi	
Beyza Yılmaz & Deniz Çakar & Seçil Akıllı Şimşek	
BÖLÜM 5.....	75
Bilgisayarlı Tomografinin Matematiği	
Muhammed Hasdemir	
BÖLÜM 6.....	89
Meme Kanserinde Epigenetik Düzenleme: DNA Metilasyonunun Rolü ve Klinik Önemi	
Esen Çakmak	
BÖLÜM 7.....	103
Curcuzone D'nin EGFR Üzerine Olası İnhibitör Etkisinin Moleküler Yerleştirme ve Moleküler Dinamik Analizleri ile İncelenmesi	
Şerife Gökçe Çalışkan	



BÖLÜM 1

Kozmik Genişlemede Karanlık Enerji

E. Canan Günay Demirel¹

Evrenin ivmelenerek genişlemesi

Modern kozmolojide evrenin ivmelenerek genişlemesi daha çözüm bulunamamış temel problemlerden biridir. Bu problemin açıklanmasına yönelik çok sayıda model önerilmiştir; bunlar kozmolojik sabit, skaler alanlar, Einstein–Hilbert eyleminin skaler-tensor uzantıları, $f(R)$ kütleçekimi, Gauss–Bonnet uzantılı Genel Görelilik ve diğer modifiye yerçekimi veya yeni ışık alanlarının varlığı (örneğin Chaplygin gazı). modelleridir. Her model hem kozmolojik hem de yerel (Dünya ve Güneş Sistemi ölçeğindeki) gözlemler için oldukça önemlidir. İvmelenerek genişlemenin bir skaler alandan kaynaklandığı varsayılan karanlık enerji modelleri, basitlikleri ve fenomenolojik zenginlikleri nedeniyle en çok incelenen modeller arasında yer almaktadır. Bu modeller, çeşitli kozmolojik gözlemlerle de test edilebilmektedir. En basit halde skaler alan, bir madde formuna bağlı değildir. Daha genel durumda ise skaler alan, karanlık maddeye minimal düzeyde bağlanabilir. Skaler alanın maddeye bağlanabilmesi için genellikle, maddenin kütleçekim durumunda hissettiği metrikten farklı bir geometrik yapı üzerinden etkileşimde bulunduğu varsayılır [1].

Gözlemlenebilir evrenin tarihi, uzay-zamanı düzleştiren, uzayinhomojen ve izotropluğunu artıran enflasyon olarak bilinen üstel genişleme dönemine bağlıdır. Bu dönem, evren tarihinde ani ve muazzam bir hızlanma ile karakterize edilir. Uzun bir yavaşlama döneminden sonra evren günümüzde, “karanlık enerji” olarak adlandırılan negatif basınçlı bir etkisiyle tekrar hızlanmaya başladığı düşünülmektedir. İvmelenmenin sebebi, halen bilinmemektedir. Genel Görelilik evrenin madde içeriği konusunda katı kurallar öngörür ve şişmeyi yasaklayan enerji koşulları, ancak dinamik bir skaler alanın etkisiyle ihlal edilebilir. Bu fikir, 1980’lerde geliştirilen ilk enflasyon modellerinin temelini oluşturur ve gözlemsel verilerle de uyumludur. Ancak skaler alanın doğası ve potansiyeli hâlâ bilinmemektedir.

Karanlık enerji için de durum benzerdir. En basit yaklaşım, kozmolojik sabiti öngören Einstein modelidir. Higgs alanı, iç serbestlik derecelerine sahip karmaşık bir dublettir ve çoklu alan dinamikleri Higgs enflasyonu durumunda incelenmiştir. Sonuçlar, Higgs ve alanlarının fizikteki hareket denklemleriyle evrenin genişlemesini etkileyebileceğini göstermektedir. Yerçekimi ile

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale Teknik Bilimler Meslek Yükseokulu, Elektrik ve Enerji Bölümü, ORCID: 0000-0003-2968-9780

birleştirilmiş Higgs modeli, yalnızca başarılı bir enflasyon dönemine yol açmakla kalmaz, aynı zamanda evrenin ivmelenerek genişlemesini de açıklayabilir. Temel mekanizma, arka plan Higgs alanının sahip olduğu yük ile ilgilidir. Bu yük, Friedmann denklemlerine girerek, “spintessence” modeline benzer şekilde ivmeli genişlemeye neden olur. İvmenin büyüklüğü, Higgs alanının vakumundan yer değiştirmesiyle ilişkilidir; vakum, yüklerle birlikte, uzun vadede kaybolan etkili ve yavaş değişen bir kozmolojik sabit gibidir. Kısaca, Higgs alanı kendi vakumunu izleyerek evrenin hızlanmasına yol açabilir [2].

Karanlık Enerjiye İlişkin Gözlemsel Kanıtlar

1990’lı yılların sonunda gerçekleştirilen Tip Ia süpernova gözlemleri, evrenin genişleme hızının zamanla arttığını göstermiştir. Bu keşif, kozmolojide önemli bir dönüm noktası olmuş ve “karanlık enerji” adı verilen, evrenin enerji kısmında baskın bir rol oynadığı düşünülen bilinmeyen bir bileşenin varlığını gündeme getirmiştir.

Karanlık enerjinin varlığına ilişkin başlıca gözlemsel kanıtlar şunlardır:

- **Tip Ia Süpernovalar (SNe Ia):** Yüksek kırmızıya kayma değerine sahip süpernovaların beklenenden daha sönük gözlenmesi, genişlemenin hızlandığını göstermiştir.
- **Baryon Akustik Salınımları (BAO):** Galaksi dağılımlarındaki karakteristik ölçekler, evrenin genişleme geçmişine dair bağımsız bir ölçüm sağlar.
- **Kozmik Mikrodalga Arka Plan (CMB):** Erken evrenin geometrisi ve madde-enerji içeriği hakkında güçlü kısıtlamalar sunar.
- **Zayıf Yerçekimsel Merceklenme:** Madde dağılımının evrimini ölçerek, karanlık enerjinin yapısal büyümeye etkisini sınırlar.

Mevcut gözlemsel veriler, durum denklemi parametresinin $w \approx -1$ olduğunu ve karanlık enerjinin vakum enerjisi modeli ile tutarlı olduğunu göstermektedir. Ancak kozmolojik sabitin gözlenen değeri, parçacık fiziğinin öngördüğü teorik değerlerle büyük ölçüde uyuşmamaktadır. Bu “ince ayar problemi”, modern fizik ve kozmolojide çözümlenememiş en önemli sorulardan biridir.

Gelecekte yapılacak yüksek hassasiyetli gözlemler, w değerinin zamana bağlı olarak değişip değişmediğini belirlemede kritik rol oynayacaktır.

Karanlık Enerji için Genel Değerlendirmeler

Karanlık enerjiye ilişkin temel bulgular şu şekilde özetlenebilir:

- **Negatif basınca sahip** olup, durum denklemi parametresi w ile tanımlanır. Kozmolojik sabit modelinde $w = -1$ iken alternatif

modellerde zamana bağıllık gözlenebilir. Güncel veriler, w değerini yaklaşık %5 hassasiyetle -1 civarında sınırlandırmaktadır.

- **Uzaysal olarak pürüzsüzdür;** büyük ölçekli yapıların kütleçekimsel çöküşünü yavaşlatır ve yoğunluk dalgalanmalarının büyümesini baskılamaktadır.
- **Kozmolojik evrimde geç dönemde baskın hale gelmiştir** (yaklaşık kırmızıya kayma $z \approx 0.5$). Daha erken dönemlerdeki katkısı sınırlıdır; ancak veriler, erken evrende dahi bu katkının %1 seviyesinde olduğunu göstermektedir.
- Hem **evrenin geometrisini** (mesafeler) hem de **yapı oluşumunu** (kümelenme, galaksi ve küme bolluğu) etkilemektedir. Geometri ve büyümenin ayrı ayrı ölçülmesi, farklı model sınıflarının ayrıştırılmasında kritik öneme sahiptir.

Sonuç olarak, karanlık enerji araştırmaları çok çeşitli uzaysal ve zamansal ölçeklerde, farklı gözlemsel tekniklerle yürütülmektedir. Sistematik hataların kontrolü, teorik modellerin test edilebilirliğini sağlanması oldukça önemlidir. Karanlık enerjinin doğasını anlamaya yönelik araştırmalar, modern kozmolojinin en önemli alanlarından birini oluşturmaktadır [3,4].

Karanlık Enerjinin Tarihsel Gelişimi

Karanlık enerjinin tarihsel gelişimi aşağıdaki gibidir.

1917: Einstein, alan denklemlerine kozmolojik sabit terimi ekledi; amacı, izole kütleli kapalı evrende sonsuza kadar uzaya yapı dayatmaması ve durağan bir evren elde etmektir.

1920'ler: Pauli, bir radyasyon alanının vakum enerjisinin çekim etkisinin çok büyük olduğunu fark etti. İncelemelere göre, vakum enerjisi yoğunluğu dördüncü kuvvetle kesme noktasıyla orantılıdır. Pauli, klasik elektron yarıçapını ultraviyole kesme noktası olarak kullanarak, evrenin eğriliğinin aşırı büyük olacağını ve Ay'a bile ulaşamayacağını gösterdi.

1931: Einstein, kozmik genişlemenin keşfiyle kozmolojik sabiti kaldırdı. 1923'te Weyl'e gönderdiği kartpostalda "Yarı statik bir dünya yoksa, kozmolojik terim de yok olsun!" yazmıştır.

1960'lar: $z \approx 1,95$ civarında kırmızıya kaymalı kuasarları açıklamak için bazı araştırmacılar Lemaître modelini ($k > 1$) önerdi; $a \approx 1/(1 + z) = 1/2,95$ civarında evren, Einstein'ın statik evrenine benziyordu.

1967: Zeldovich, boşluk dalgalanmalarını dikkate alarak kozmolojik sabit problemini yeniden gündeme getirdi ve "ince ayar" kavramını tanıttı.

1987: Weinberg, sıfırdan farklı ve küçük bir kozmolojik sabiti öngördü; iki yıl sonra bu konudaki makalesini yayımladı.

1998: Riess ve arkadaşları, 16 uzak ve 34 yakın süpernova analizi ile evrenin hızlanan genişlemesini keşfettiler. Kısa süre sonra, Perlmutter ve ekibi, Calan-Tololo örneğinden 18 yakın ve 42 uzak süpernova kullanarak bu sonucu doğruladılar.

2000'ler: Sicim teorisini çalışan araştırmacılar, sicim manzarasını keşfederek antropik ilkeyi yeniden gündeme getirdiler.

2011: Kozmik ivmenin keşfi nedeniyle Adam Riess, Brian Schmidt ve Saul Perlmutter, Nobel Fizik Ödülü'nü kazandılar.

Weinberg'in sınıflandırmasına göre, ivmenin keşfinden önceki teorik çalışmalar şunlardır:

Süpersimetri ve süpersicim teorileri,

Antropik ilke,

Ayarlama mekanizmaları,

Genel göreliliğin değiştirilmesi.

Evrenin hızlanarak genişlemesinin keşfinden sonra sayısız çalışma yapılmış ve makale yayımlanmıştır. Ancak, karanlık enerjinin yapısını anlamak oldukça zordur. Hem teorisini çalışan araştırmacılar hem de deneyçiler için kat edilmesi gereken uzun bir yol vardır. Hala karanlık enerji modern bilimde en heyecan verici araştırma alanlarından biri olmaya devam etmektedir [5].

Karanlık enerjinin varlığına dair doğrudan kanıt olmasa da, kozmologların büyük çoğunluğu evrenin hızlanarak genişlemesinin fiziksel bir nedeni olduğunu kabul etmektedir. Genel Görelilik çerçevesinde bu neden, Einstein denklemlerine eklenen kozmolojik sabit (Λ) terimiyle modellenir. Ancak, Λ 'nin tüm kozmik tarih boyunca sabit kalmasına dair teorik bir gereklilik yoktur. Kozmolojik ilke bunu zorunlu kılmaz. Bu basitleştirme, Kozmolojik sabit problemini ortaya çıkarır. Gözlemlenen vakum enerjisi yoğunluğu ile kuantum alan teorisi tahminleri arasında büyük bir uyumsuzluk vardır. Bu problem, Einstein tarafından ortaya konulmuş olup, hala çözümlenememiştir [6].

Karanlık Enerji Nedir?

Karanlık enerji, etkili bir anti-kütle çekimi kuvveti oluşturan madde olarak tanımlanır ve $p = w\rho$ durum denklemiyle karakterize edilebilir; burada w parametresi -1 'den farklı olabilir ve genel olarak zamana bağlı şekildedir [7].

Karanlık enerji, negatif basınca sahip olup evrenin geometrisi, genişleme hızı ve yapısal evrimi üzerinde doğrudan etkilidir. En basit durumu, Einstein'ın alan

denklemlerindeki kozmolojik sabit (Λ) olup durum denklemi parametresi $w = -1$ değerine sahiptir. Planck verileri bu değeri $w = -1.03 \pm 0.03$ olarak kısıtlamaktadır. Son olarak Karanlık Enerji Araştırması (DES) işbirliği w 'nin değişken olabileceğini veya $w \simeq -0.948$ sabit değerini alabileceğini göstermiştir; her iki durumda da karanlık enerjinin tek başına bir kozmolojik sabit olarak tanımlanabileceği ortaya konmuştur. Ayrıca zamanla değişen skaler alanlar (ör. quintessence) ve genel görelilik kuramına getirilen modifikasyonlar yer almaktadır [8].

Skaler alan modelleri, uygun şekilde ayarlandığında, evrenin dinamik karanlık enerji davranışını temsil edebilir ve tek akışkanlı modellere indirgenebilir [9].

Karanlık enerji, evrenin hızlanarak genişlemesinin sebep olduğu düşünülen egzotik bir bileşendir. Yapısı belirsiz olmasından dolayı kozmologlar için önemli bir sorun teşkil etmektedir. Karanlık Enerji Spektroskopik Aleti (DESI), Karanlık Enerji Araştırması (DES), Geniş Alan Kızılötesi Tarama Teleskobu (WFIRST), Büyük Senoptik Tarama Teleskobu (LSST) gibi mevcut ve gelecekteki deneylerin odağında bulunmaktadır. Mevcut gözlemler ve zayıf merceklenme evrenin hızlanarak genişlemesini güçlü biçimde doğrular ve soğuk karanlık madde (Λ CDM) modeliyle genel olarak uyumludur. Λ CDM'de kozmolojik akışkanın ek bir bileşeni (kozmojik sabit Λ , $w = -1$) karanlık enerji olarak tanımlanır. Ancak karanlık enerji doğrudan gözlemlenemediğinden, yalnızca Hubble akışı üzerindeki etkileri ve madde-enerji dağılımındaki yansımalarıyla incelenebilmektedir. Gözlemsel verilerde, H_0 ve $w(z)$ ölçümlerinde Planck, SH0ES, H0LiCOW, TRGB, megamaserler ve diğer yöntemler arasında gerilimler bulunmakta, bu da standart modelin alternatif yaklaşımlarla test edilmesini gerektirmektedir. Karanlık enerjinin dinamik yapısını incelemek için parametrik ($w(z)$ fonksiyonları) ve parametrik olmayan (Taylor, Fourier, Pade, spline, PCA) durumlarına bakılmaktadır. Bu yöntemler, karanlık enerjinin Λ 'dan olası sapmalarını ve zamana bağlı davranışını doğrudan verilerden çıkarmayı sağlar [10].

Yerçekimi dengesizliği nedeniyle, evrenin milyarlarca yıl boyunca ne kadar hızlı genişleyeceğini tahmin etmek oldukça zordur. Ölçümler genellikle mikrodalga bantlarında, evrenin son derece pürüzsüz olduğu dönemlerde yapılır. DES ise farklı bir yaklaşım sergilemektedir. Evrenin milyarlarca yıl sonra homojen olmayan bir hale geldiği dönemi optik bantlarda incelemektedir. DES, radyasyonu izleyici olarak kullanmak yerine galaksileri ve kaymayı gözlemlemektedir. Basit bir modelin farklı ölçüm kümeleri için tutarlı tahminler yapması oldukça ilgi çekicidir [11].

Karanlık enerji, yüksek kırmızıya kaymalarda ($z \gg 0(1)$) rol oynayabilir. Birçok model, karanlık enerjinin evrenin erken döneminde, mevcut gözlemsel

verilerle uyumlu olarak veya madde-radyasyon eşitliğine yakın bir zamanda gerçekleşen faz geçişleri ile ölçeklenen veya çekim çözümlerine sahip olduğunu öne sürmektedir. Erken karanlık enerji kozmolojik sorunların çözülmesinde önemli katkıda bulunabilir [12].

Erken karanlık enerji, radyasyon kadar hızlı veya daha hızlı seyrermeli, erken genişlemeyi hızlandırmalı ve madde-radyasyon eşitliğini geciktirerek H_0 değerini artırmalıdır. Tipik yavaş yuvarlanan karanlık enerji potansiyelleri, minimum etrafında salınmaya başladığında enerji yoğunluğunu büyük kütleli madde gibi ölçeklendirebilir. Aynı zamanda, kuadratik potansiyeller erken karanlık enerjiyi açıklamakta yetersiz kalabilir ve enerji çoğunlukla karanlık maddeye katkıda bulunabilir. Öte yandan, mevcut karanlık enerjiyi açıklamak için halen uygun adaylardan biridir [13].

Tip Ia süpernova ölçümleri, evrenin hızlanarak genişlemesini ortaya koyarak karanlık enerjinin varlığını güçlü bir biçimde desteklediğinden bahsetmiştik. Günümüzde kabul gören Λ CDM modeli, evrenin enerji içeriğinin yaklaşık %70'inin karanlık enerji ve %30'unun madde (baryonik + karanlık) olduğunu ortaya koymaktadır. Buna ek olarak, ultra hafif aksiyonlar veya aksiyon benzeri parçacıklar, karanlık enerji ve bazı karanlık madde problemlerini açıklamak için önerilmektedir. Bu parçacıklar, kütleleri $10^{-22} - 10^{-29}$ eV arasında değişen çok hafif türler olup, evrenin dinamikleri ve cüce galaksilerin dağılımı üzerinde etkili olabilir. Böylece hem karanlık enerjinin dinamik yapısını hem de bazı küçük ölçekli kozmolojik gözlemsel sorunları ele almak için bu modeller test edilebilir ve geliştirilebilir [14].

KARANLIK ENERJİ VE KOZMİK GENİŞLEME

Evrenin hızlanarak ivmelenip kozmik genişlemesi, günümüz kozmolojisinde en önemli keşiflerden biridir. Bu ivmelenme, evrenin enerjisinin yaklaşık dörtte üçünün negatif basınçlı bir bileşen, yani karanlık enerjiden kaynaklandığı düşünülmektedir. Karanlık enerjiyi açıklamak amacıyla birçok model önerilmiştir. Bu modeller, akışkanlara ve kanonik ya da kanonik olmayan skaler alanlara dayanmaktadır. Geç zaman ivmelenmesinin koşulu, karanlık enerjinin durum parametresi denkleminin $w < -1/3$ olmasıdır; burada w , basınç p ile enerji yoğunluğu ρ arasındaki oranı tanımlar. Durum parametresi denklemini sabit veya zamanın bir fonksiyonu olabilir. Sabit veya değişken durum parametresine sahip basit bir karanlık enerji modeli, barotropik bir akışkan modeli olarak ele alınabilir. Değişken karanlık enerji için $w(z)$ 'nin parametrelendirilmiş bir biçimi varsayılır; bu parametrelendirme kırmızıya kaymada bir Taylor serisi açılımı, ölçek faktöründe bir Taylor serisi veya daha genel bir fonksiyonel form alabilir. Parametreler daha sonra farklı gözlemler kullanılarak kısıtlanabilir.

Karanlık enerji, kozmolojik sabit Λ 'den uzaklaşabilir ve iyi tanımlanmış fiziksel davranışlar çerçevesinde anlaşılabilir. Bu davranışlar, karanlık enerjiyi çözülme veya donma sınıflarına yönlendirebilir. Faz uzayının diğer bölgeleri, yani kaçınma bölgeleri, bazı temel prensiplerin ihlalini gerektirir. Bu çerçevede, mevcut verilerin en iyi uyumu fiziksel etkilerin dört temel özelliği ile açıklanabilir. Kozmik ivme, evrenin genişlemesini yerçekiminin çekimine karşı bükerek, mesafeleri uzatır, büyük ölçekli yapıların büyümesini baskılar ve muhtemelen gelecekte büyümenin durmasına yol açabilir. Parçacık fiziğinin Standart Modeli dışında kaynağı bilinmemektedir. En basit açıklama kozmolojik bir sabit Λ olsa da bu yaklaşım Planck ölçeğinde enerji yoğunluğu sorunları ve kuantum düzeltmeleri gibi paradokslarla karşılaşır. Λ 'in ötesine geçmek, karanlık enerjiye dinamik özellikler kazandırır ve bu, karanlık enerji alanının madde ve radyasyon ağırlıklı genişlemeye sahip bir evrende net fiziksel davranışlar sergilemesini sağlamış olur.

Karanlık Enerji Dinamiği

Karanlık enerji boşlukta tek başına var olamaz. Birçok kat radyasyon ve maddenin hakim olduğu bir genişleme döneminde olduğu düşünülmektedir. Bu evrim, belirli dinamikler gerektirir. Hubble sürütmesi, karanlık enerji potansiyelinin dikliği ile birlikte alanın evrimini yönetir. Eğer Hubble sürütmesi baskınsa, alan yerinde donar ve evren yeterince genişlediğinde çözülme üzere serbest kalır. Bu, kozmolojik sabit davranıştan uzaklaşan çözülme alanlarını oluşturur. Potansiyel dik bir eğime sahipse, alan erken evrende yuvarlanır ve potansiyel minimumuna yakın bir eğim bölgesine yaklaşır. Hubble sürütmesi devreye girer ve alan yavaşlar, bu da donma alanlarını oluşturur. Karanlık enerjinin dinamik özelliklerine ilişkin öneriler arasında Quintessence, Phantom ve Quintom modelleri, $f(R)$ yedekleri, Brans-Dicke ve Brane senaryoları yer almaktadır. Kozmologlar fenomenolojik parametreler ile karanlık enerjiyi incelemektedirler. Bunların arasında yavaşlama parametreleri $q(z)$, sarsıntı $j(z)$ ve en yaygın olarak durum denklemi $w(z)$ bulunur. Durum denklemi ve karanlık enerji yoğunluğu için parametrik formlar (GEDE, GDE, EDE, EMLG) geliştirilmiştir. Kozmik ivmenin keşfinden bu yana, Λ CDM modeli, CMB, süpernovalar, galaksi kümeleri ve zayıf mercekleme gibi gözlemlerle kozmolojinin standart modeli hâline gelmiştir. Karanlık maddenin dağılımı belirsizdir ve gözlemlenen vakum enerjisi, Λ 'nin teorik olarak doğal olmayan bir ince ayar gerektirdiğini göstermektedir.

Zhao ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, etkili karanlık enerjinin denklem durumu yeniden yapılandırılmış ve bazı kırmızıya kaymalarda Λ , Λ CDM'den anlamlı sapmalar tespit edilmiştir. Minimal skaler alan modellerinde bu durum, hayalet kararsızlıkları yaratabilirken; minimal olmayan modellerde örneğin ek skaler alanlar içeren senaryolarda denklem durumu parametresi $w =$

-1 değerini koruyabilir ve karanlık enerji, belirli kırmızıya kaymalarda Λ CDM öngörülerinden kısmi sapmalar gösterebilir. Bu sonuçlar, karanlık enerjinin evrimsel doğasının daha karmaşık olabileceğini ve sadece sabit bir kozmolojik sabitle açıklanamayabileceğini ortaya koymaktadır. Karanlık enerji özellikleri hakkında oldukça fazla bilgi sahibi olmamıza rağmen, veriler genellikle $w(a)$ ve $w'(a)$ gibi fonksiyonların tüm ayrıntılarını doğrudan göstermez. Gözlemler integrallere bağlıdır ve bu nedenle yalnızca iki parametre üzerinden kısıtlanabilir. Temel bileşen analizi veya benzeri teknikler, gözlemler %0,1 hassasiyetin ötesine geçene kadar, yalnızca bu sınırlı parametrelerin anlamlı olduğunu gösterir [15,16].

Karanlık Enerji Verilerini Yorumlama

Mevcut veriler (DESI, süpernovalar, CMB, BAO) hayalet karanlık enerji adı verilen özel bir faz uzayı kesitini işaret etmektedir. Bu modelin dört temel özelliği şunlardır:

Erken evrende ($z \gtrsim 1$) karanlık enerji, $w < -1$ koşulunu sağlayan hayalet bir bileşen olarak davranmaktadır. Kozmolojik genişleme sürecinde Hubble sürtünmesini aşarak süper-evrimleşmiş ve denklem durum parametresi $w = -1$ 'i geçerek “hayalet ayrımı” olarak adlandırılan fenomeni ortaya koymuştur. Günümüz evreninde ise karanlık enerji, $w > -1$ değerine doğru gitmekte olup, kozmolojik sabit benzeri davranıştan farklılaşmaktadır. Bu dinamik davranış, karanlık enerjinin zamanla değişen bir yapıya sahip olduğunu ve evrenin genişleme tarihine bağlı olarak farklı fazlarda karakterize edilebileceğini göstermektedir [17].

Evrenin İvmeli Genişlemesi: Karanlık Enerji ve Modifiye Edilmiş Kütleçekim

Evrenin ivmelenerek genişlemesinin nedeni, fizikte hâlen cevap bulamamıştır. Kozmolojide, bu ivmelenmeyi açıklamak için iki ana fiziksel senaryo öne çıkmaktadır: karanlık enerji ve modifiye edilmiş kütleçekimdir. 1998 yılında keşfedilen ivmelenerek genişleme, evrenin yapı oluşumuna ve kozmolojideki temel sorulara yeni bir perspektif kazandırmıştır. Büyük Ölçekli Yapı (LSS) gözlemleri, ivmenin ardındaki fiziksel süreçleri araştırmada temel araçlardan biri olmuştur. Karanlık enerji modelleri, evrenin stres-enerji dağılımını değiştirerek, Einstein denklemlerinin sağ tarafına ek bir bileşen ($w \simeq -1$) ekler. Modifiye edilmiş kütleçekim modelleri ise, Einstein-Hilbert eyleminin sol tarafını değiştirerek, genel göreliliği değiştirir. Her ne kadar bazı modeller belirli bir kategoriye ait olsa da karanlık enerji ve modifiye edilmiş kütleçekim arasında sürekli bir model spektrumu mevcuttur. Bu yüzden kesin ayırım yapmak çoğu zaman mümkün değildir. Daha ayrıntılı bir gözlemsel veri, beşinci bir kuvvet

aracılığıyla evrensel olarak bağı hafif serbestlik derecelerine sahip modelleri, modifiye edilmiş kütleçekim olarak tanımlamaktadır [18].

Karanlık enerjinin yapısı, teorik ve gözlemsel kozmolojide oldukça önemli bir konudur. Güncel ve gelecekteki kozmik gözlemlerin temel hedeflerinden biri, karanlık enerji veya Genel Görelilik değişikliklerinin standart Λ CDM senaryosundan sapmalarını tespit etmek veya sınırlandırmaktır. Bu durum özellikle Genel Görelilikten sapmaların tam olarak test edilmediği ~ 10 Mpc üzerindeki ölçekler için geçerlidir. Bu ölçeklerde doğrusal bozulma teorisi hâlen geçerlidir. Çok sayıda karanlık enerji ve modifiye yerçekimi modeli dikkate alındığında, Λ CDM'den sapmaları minimum parametre ile tanımlayan etkili bir yaklaşım önemlidir. Doğrusal pertürbasyonlar bağlamında bu, tek skaler alan modelleri ve Etkin Alan Teorisi ile gerçekleştirilebilir. EFTCMB gibi sayısal kodlarda uygulanan formalizm, Λ CDM'den sapmaları beş serbest zaman fonksiyonu ile parametrelendirir. Bunlardan dördü Horndeski teorilerini, beşincisi ise genel görelilikten sapmaları kapsar. Horndeski'nin ötesindeki teoriler de Ostrogradski kararsızlıklarından arındırılmış şekilde dahil edilebilir. Bu çerçevede, maddenin benzersiz bir Jordan çerçeve metriğine minimal şekilde bağlı olduğu varsayılabilir. Güneş Sistemi ölçeklerinde bağlantılar iyi test edilmiş olsa da kozmolojik ölçekte kısıtlamalar daha zayıftır. İvmeli genişlemeden sorumlu skaler alan, büyük ölçeklerde eşdeğerlik ilkesinin ihlallerine yol açabilecek beşinci bir kuvvet aracılığıyla etkide bulunabilir. Baryonlar ve fotonlar üzerindeki etkiler sıkı biçimde kısıtlyken, Λ CDM ve nötrinolar üzerindeki etkiler daha büyük olabilir [19].

Sicim Teorisi

Gözlemlenebilir bugünkü evrendeki enerji kaybının yaklaşık %70'ini oluşturan ve temel fizikteki en büyük sorulardan biri olan evrenin ivmelenerek hızlanan durumunu açıklayan karanlık enerjinin mikroskobik bileşimidir. Sıfırlanana kadar olmayan bir kozmolojik sabitle sağlanıyordu, değeri kuantum alan teorisinden elde edilen tahminlerden yaklaşık 120 birim daha küçük olacaktır. Kozmolojik olarak sabit ve yaygın olarak bilinen alternatif yuvarlanan bir skaler alandır. Ancak skaler alan yalnızca son derece küçük bir vakum enerjisi elde etmekle kalmamalı, aynı zamanda son derece hafif ve kütleli olmalıdır. Sicim teorisi, özellikle karanlık enerjinin ultraviyole fiziğine ve kuantum kütleçekim ürünlerine teknolojik olarak göz önünde bulundurulması, karanlıkta saklanması için sağlam bir teorik çerçeve sunmaktadır [20].

Karanlık Enerjinin Fiziksel Senaryoları

DESI, Planck ve Süpernova verileri çerçevesinde, evrimleşen karanlık enerjinin fiziksel olarak tutarlı senaryolarını inceliyoruz. CPL parametrelendirmesi, karanlık enerji durum denklemi w için kozmolojik sabite

izin verebilir ve erken dönemlerde $w < -1$ olan bölgeleri destekleyebilir; bu durum tutarlı teorilerde gerçekleştirilmesi güçtür. Etkili alan teorileri perspektifinden, durum denkleminin yüksek mertebeden doğrusal olmayan terimleri kısıtlıdır ve erken dönemlerde $w > -1$ olabilecek senaryoları mümkün kılabilir. Öz modelleri, geç dönemlerde CPL ile uyumlu ve erken dönemlerde kozmolojik sabite yaklaşan rampa modelleri sunmaktadır. Bu modeller Λ CDM ve soğuk karanlık madde ile karşılaştırıldığında hem uyumlu hem de teorik olarak tutarlıdır.

Evrenin büyük ölçekli davranışı büyük ölçüde Kozmolojik Sabit ($\Omega\Lambda$) tarafından belirlenir. Şişme dönemi ve mevcut dönem farklılık gösterir; şişmenin sona ermesi kozmolojik sabitin zaman içinde sabit olmadığını ima eder ve kuantum alan teorisine göre yeni serbestlik derecelerini gerektirir. Mevcut evrede kozmolojik sabitin zamansal değişimi için ikna edici kanıt yoktur. Bu yüzden karanlık enerji zaman evrimine ve olası yeni serbestlik derecelerine sahip bir bileşen olarak incelenebilir. Karanlık enerjinin kümelenmeye katkısı sınırlıdır. Esas olarak evrenin genişleme tarihini inceleyerek tespit edilir. Karanlık enerji hakimiyeti $z \sim 0.3$ civarında gerçekleştiğinden, etkileri Hubble parametresi, BAO ve SN ölçümleri ile düşük kırmızıya kaymada gözlemlenir. CPL parametrelendirmesi, karanlık enerji bozulmalarını değerlendirmek için kullanışlıdır ve veriler erken dönemlerde $w < -1$ senaryolarını tercih etse de kuantum alan teorisiyle uzlaştırılması oldukça güçtür [21].

Karanlık Enerji ve Hubble Gerilimi

Hubble sabiti evrenin mevcut genişleme hızını ölçen temel kozmolojik parametrelerden biridir. Son yıllarda farklı gözlemsel yöntemlerle elde edilen değerleri arasındaki tutarsızlık, astrofizik ve kozmoloji topluluklarında önemli tartışmalara yol açmıştır. Planck verileriyle Λ CDM çerçevesinde elde edilen Hubble sabiti tahminleri, SH0ES iş birliği ölçümleriyle $\gtrsim 5\sigma$ düzeyinde çelişmektedir. Bu gerilimi çözmek amacıyla Λ CDM modelinin çeşitli revizyonları önerilmiştir. Bunlar arasında, karanlık madde ve karanlık enerjinin kütleçekimsel olmayan etkileşimlerle birbirini etkilediği genelleştirilmiş senaryolar öne çıkmaktadır. Bu etkileşimli karanlık madde ve karanlık enerji modelleri, Hubble sabiti değerlerini yükselterek gerilimi hafifletebilme potansiyeli taşır.

Evrenin karanlık kısmı toplam enerji bütçesinin yaklaşık %96'sını oluşturur ve gözlenen yapı oluşumundan karanlık madde ve evrenin hızlanan genişlemesinden de karanlık enerji sorumludur. Λ CDM modeli, karanlık madde ve karanlık enerjinin bağımsız olarak korunduğu en basit senaryoda, mevcut gözlemleri başarılı şekilde açıklamaktadır. Ancak Λ CDM'nin kozmolojik sabit problemi ve kozmik tesadüf problemi gibi sınırlamaları vardır. Ayrıca Planck

CMB gözlemleri ile yerel ölçümler arasında H_0 ve S_8 parametrelerinde $2 - 5\sigma$ düzeyinde gerilimler gözlemlenmiştir. Bu nedenle Λ CDM, keşfedilmemiş daha gerçekçi bir modelin basit bir yaklaşımı olabilir. Bu bağlamda etkileşimli karanlık madde ve karanlık enerji teorileri incelemek mümkündür. Etkileşim, karanlık madde ve karanlık enerji arasında enerji transferi sağlayan fonksiyon $Q(t)$ ile tanımlanır ve arka plan ile bozulmalar düzeyinde evrim denklemlerini değiştirir. $Q(t)$ için henüz temel bir türetim mevcut olmasa da fenomenolojik açıdan zengin bir kozmolojik model ortaya çıkabilir [22].

En Güncel Gözlemsel Veriler

En son gözlemsel verileri kullanarak karanlık enerji yoğunluğunun evrimini yeniden yapılandırmıştır. Karanlık enerjiyi doğrudan durum denklemi üzerinden modellemenin bazı önyargılar getirdiğini ve negatif karanlık enerji yoğunluklarını engellediğini vurgulamıştır.

Analizleri, ilginç özelliklere sahip bir karanlık enerji yoğunluğu için yaklaşık $3,7\sigma$ düzeyinde bir tercih göstermektedir. Örneğin, düşük kırmızıya kaymalarda ($z \lesssim 0,7$) karanlık enerji Λ CDM tahminleri etrafında salınım gösterirken, yüksek kırmızıya kaymalarda ($z \gtrsim 2,3$) negatif değerlere ulaşabilmiştir. Karanlık enerji, birden fazla kırmızıya kayma aralığında basınçsız davranabilir ve $0,1 \lesssim z \lesssim 0,2$ aralığında kısa bir kozmik yavaşlama periyoduna izin verebilir [23].

Son gözlemsel veriler, evrenin yaklaşık $\%1/3$ 'ünün madde (baryonik + karanlık) ve $\%2/3$ 'ünün negatif basınçlı egzotik bir bileşen (karanlık enerji veya quintessence) olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar, SN Ia gözlemleri, CMB anizotropileri, büyük ölçekli yapı, galaksi kümeleri çeşitli veri setlerinden elde edilmiştir. Bu bulgular, enflasyonist düz evren tahminini gözlemsel verilerle bağlayarak evrenin hızlanarak genişlemesini açıklamaktadır. 1998'de SN Ia gözlemleri, Hubble-Sandage diyagramı üzerinden, evrenin beklenildiği gibi yavaşlamak yerine hızlandığını ortaya koymuştur. Bu, evrendeki enerji yoğunluğunun büyük kısmının itici, negatif basınçlı bir bileşen tarafından sağlandığını ve karanlık enerji olarak adlandırıldığını göstermektedir. Bu keşif, çağdaş kozmolojinin süpernova (SN) deneyleriyle başladığını ve gelecekte yeni nesil SN projeleri ile tamamlayıcı gözlemlerin karanlık enerji paradigmasına ışık tutacağını göstermektedir [24].

SONUÇ

Karanlık enerji özellikleri, uzun bir radyasyon ve madde hakimiyeti dönemi boyunca evrenin evrimi sırasında iyi anlaşılabilir. Faz uzayının kalibrasyonu sayesinde, kaçınma bölgeleri ve bu bölgelerin devreye girmesi için hangi temel ilkelere uyulması gerektiği açıkça belirlenebilir. Mevcut veriler, karanlık enerjinin yüksek kaçınma bölgesinde davrandığına dair önemli ipuçları

sunmaktadır. Hayalet karanlık enerji, hayalet geçiş ve de Sitter olmayan bir gelecek durumu da dahil olmak üzere sıra dışı özelliklere sahip olup, madde hakimiyeti sırasında hızlı evrim geçirmiştir.

Bu davranış, faz geçişi biçimindeki bir kuplaj ile açıklanabilir. Yeni ve daha yüksek doğruluklu genişleme, büyüme ve ktleekim gözlemleri, hayalet enerjinin özelliklerini test edebilecek ve karanlık enerjinin doğası hakkında önemli bilgiler sağlayacaktır. Özellikle $z \gtrsim 2$ aralığını hedefleyen deneyler, karanlık enerji yoğunluğunun erken evrende yok denecek kadar küçük olup olmadığını araştırabilir ve faz geçişinin gözlemlenebilirliğini test edebilir.

Karanlık Enerji ile İlgili Gelecek Beklentiler

Dinamik Karakterin Belirlenmesi: Mevcut gözlemler, karanlık enerjinin yalnızca sabit bir kozmolojik sabit olmayabileceğini, zamanla değişen bir yapıya sahip olabileceğini göstermektedir. Gelecekteki hassas gözlemler, erken ve geç evrelerde karanlık enerjinin davranışını daha net belirleyerek, Λ CDM modelinden olası sapmaları sınırlayabilecektir.

Erken Karanlık Enerji (EDE) Araştırmaları: EDE gibi bileşenlerin kozmik genişlemeyi erken dönemde hızlandırabileceği ve H_0 gerilimini azaltabileceği ne sürülmektedir. Gelecekteki kozmik ölçümler, bu erken karanlık enerjinin niceliğini ve niteliğini doğrulamaya çalışacaktır.

Skaler Alan ve oklu Alan Modelleri: Higgs alanı ve skaler alanlar, hem erken evren enflasyonu hem de geç dönem ivmeli genişlemeyi açıklayabilmek için adaydır. Gelecekte, bu alanların dinamik özellikleri ve etkileşimleri daha hassas şekilde incelenerek, evrenin enerji içeriği hakkında doğrudan bilgiler elde edilebilir.

Modifiye Edilmiş Yerçekimi ve Bağlı Kararlı Modeller: Karanlık enerji ile yerçekimi arasındaki olası etkileşimler, farklı madde türlerinin skaler alanlara bağlanması ve evrende beşinci kuvvet etkilerini test etmeyi mümkün kılmaktadır. Gelecek deneyler, bu etkilerin büyüklüğünü ve kozmolojik ölçeklerdeki önemini sınırlayabilir.

Kuantum Alan Teorisi ve Kozmolojik Bağlantılar: Erken karanlık enerji ve güncel karanlık enerji davranışları, kozmoloji ile UV fiziği arasındaki bağları güçlendirebilir. Bu, temel parçacık fiziği ile evrenin genişleme tarihini birbirine bağlayan nadir bir durumdur.

Gözlemsel Sınırların Genişletilmesi: Gelecekteki hassas teleskoplar ve kozmik ölçümler, karanlık enerjinin evrimini farklı kırmızıya kayma dönemlerinde izleyerek hem sabit hem de dinamik senaryoları test etmeye olanak sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Jorgen, M. (2016). Generalized dark energy interactions with multiple fluids. *JCAP*, 11.
- [2] Rinaldi, M. (2015). Higgs dark energy. *Classical and Quantum Gravity*, 32(4), 045002.
- [3] Huterer, D., & Shafer, D. L. (2017). Dark energy two decades after: observables, probes, consistency tests. *Reports on Progress in Physics*, 81(1), 016901.
- [4] Weinberg, D. H., Mortonson, M. J., Eisenstein, D. J., Hirata, C., Riess, A. G., & Rozo, E. (2013). Observational probes of cosmic acceleration. *Physics reports*, 530(2), 87-255.
- [5] Li, M., Li, X. D., Wang, S., & Wang, Y. (2011). Dark energy. *Communications in theoretical physics*, 56(3), 525.
- [6] Peracaula, J. S., Gomez-Valent, A., & de Cruz Pérez, J. (2019). Signs of dynamical dark energy in current observations. *Physics of the Dark Universe*, 25, 100311.
- [7] Sazhin, M. V., Sazhina, O. S., & Chadayammuri, U. (2011). The Scale Factor in the Universe with Dark Energy. arXiv: astro-ph. CO, 1109, v1.
- [8] Frieman, J. A., Turner, M. S., & Huterer, D. (2008). Dark energy and the accelerating universe. *Annu. Rev. Astron. Astrophys.*, 46(1), 385-432.
- [9] Joyce, A., Lombriser, L., & Schmidt, F. (2016). Dark energy versus modified gravity. *Annual Review of Nuclear and Particle Science*, 66(1), 95-122.
- [10] Escamilla-Rivera, C., Quintero, M. A. C., & Capozziello, S. (2020). A deep learning approach to cosmological dark energy models. *Journal of Cosmology and Astroparticle Physics*, 2020(03), 008.
- [11] Abbott, T. M., Abdalla, F. B., Alarcon, A., Aleksić, J., Allam, S., Allen, S., ... & Refregier, A. (2018). Dark Energy Survey year 1 results: Cosmological constraints from galaxy clustering and weak lensing. *Physical Review D*, 98(4), 043526.
- [12] Gómez-Valent, A., Zheng, Z., Amendola, L., Pettorino, V., & Wetterich, C. (2021). Early dark energy in the pre-and postrecombination epochs. *Physical Review D*, 104(8), 083536.
- [13] Kaloper, N. (2019). Dark energy, H_0 and weak gravity conjecture. *International Journal of Modern Physics D*, 28(14), 1944017.
- [14] Luu, H. N., Qiu, Y. C., & Tye, S. H. H. (2025). Dynamical dark energy from an ultralight axion. *Physical Review D*, 112(2), 023524.

- [15] Linder, E. V. (2024). Interpreting Dark Energy Data Away from Λ . *arXiv preprint arXiv:2410.10981*.
- [16] Zhao, G. B., Raveri, M., Pogosian, L., Wang, Y., Crittenden, R. G., Handley, W. J., ... & Zhang, H. (2017). Dynamical dark energy in light of the latest observations. *Nature Astronomy*, 1(9), 627-632.
- [17] Escamilla, L. A., & Vazquez, J. A. (2023). Model selection applied to reconstructions of the Dark Energy. *The European Physical Journal C*, 83(3), 251.
- [18] Tripathi, A., Sangwan, A., & Jassal, H. K. (2017). Dark energy equation of state parameter and its evolution at low redshift. *Journal of Cosmology and Astroparticle Physics*, 2017(06), 012.
- [19] Gleyzes, J., Langlois, D., Mancarella, M., & Vernizzi, F. (2015). Effective theory of interacting dark energy. *Journal of Cosmology and Astroparticle Physics*, 2015(08), 054.
- [20] Hardy, E., & Parameswaran, S. (2020). Thermal dark energy. *Physical Review D*, 101(2), 023503.
- [21] Notari, A., Redi, M., & Tesi, A. (2024). Consistent theories for the DESI dark energy fit. *Journal of Cosmology and Astroparticle Physics*, 2024(11), 025.
- [22] Pan, S., & Yang, W. (2024). On the Interacting Dark Energy Scenarios—The Case for Hubble Constant Tension. In *The Hubble Constant Tension* (pp. 531-551). Singapore: Springer Nature Singapore
- [23] Wang, Y., Pogosian, L., Zhao, G. B., & Zucca, A. (2018). Evolution of dark energy reconstructed from the latest observations. *The Astrophysical Journal Letters*, 869(1), L8.
- [24] Lima, J. A. S. (2004). Alternative dark energy models: an overview. *Brazilian Journal of Physics*, 34, 194-200.



BÖLÜM 2

Küçük GTPazlar ile Epigenetik Faktörler Arasındaki Moleküler İlişkiler

Didem Turgut Coşan¹ & Ylli Krasniqi²

1.GİRİŞ

GTPazlar, hücre içi sinyal iletiminde görev alan ve GTP (guanozin trifosfat) bağlayarak aktif hale gelen enzimlerdir. Bunlar klasik G-protein sinyal yollarında yer alırlar ve hücrelerin genellikle hormonlar, nörotransmitterler gibi dış sinyallere yanıt vermesinde görev alırlar.

Yapısal ve işlevsel özelliklerine büyük (heterotrimerik) GTPazlar ve küçük (monomerik) GTPazlar olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Büyük GTPazlar alfa (α), beta (β) ve gama (γ) gibi üç alt birimden oluşur. Genellikle hücre zarındaki G protein-bağımlı reseptörler (GPCR) aracılığıyla aktive edilirler. Dış ortamdan gelen sinyalleri hücre içine ileterek adenilat siklaz, fosfolipaz C gibi hedef enzimleri etkilerler. Gs, Gi, Gq ve G12/13 gibi alt tipleri, farklı sinyal yollarını yönetir. Küçük GTPazlar ise tek bir alt birimden oluşurlar ve genellikle Ras süper ailesi altında sınıflandırılır. Bu ailede yer alan Ras, Rho, Rab, Arf ve Ran gibi proteinler GTP'ye bağlanarak aktif, GDP'ye bağlanarak inaktif hale gelirler. Aktivasyon ve inaktivasyon süreçleri GEF (Guanine nucleotide Exchange Factor), GAP (GTPase Activating Protein) ve GDI (GDP Dissociation Inhibitor) gibi düzenleyici proteinler tarafından kontrol edilir.

Bu proteinler hücre içi sinyal iletimi, vezikül taşınması, hücre iskeleti düzenlenmesi gibi birçok temel biyolojik süreçte görev alırken; epigenetik faktörlerle olan etkileşimleri, gen ekspresyonunun dinamik kontrolünü anlamamız açısından oldukça önemlidir. Son yıllarda yapılan araştırmalar, küçük GTPazların gen ekspresyonunu doğrudan veya dolaylı olarak etkileyebildiğini, epigenetik faktörlerle olan etkileşimlerinin ise hücre kaderinin belirlenmesinde, hastalıkların gelişiminde ve terapötik hedeflerin tanımlanmasında büyük önem taşımaktadır.

¹ Prof.Dr., Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji A.D. Eskişehir, Türkiye, ORCID: 0000-0002-8488-6405.

² MSc Bio., Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji A.D. Eskişehir, Türkiye, ORCID: 0000-0003-1115-7137.

Bu bölümde, Ras, Rho, Rab, Arf ve Ran gibi küçük GTPaz alt gruplarının epigenetik faktörlerle olan ilişkisi literatürdeki güncel bulgularla sentezlenerek açıklanması amaçlanmıştır.

Ras GTPaz ve Epigenetik Faktörleri

NRAS ve KRAS'ın aktive edici mutasyonları, miyeloid malignitelerin yaklaşık %10–30'unda bulunur ve sıklıkla hızlanmış hücre büyümesiyle ilişkilidir. Bu mutasyonlar, alele göre farklı özellikler gösterir ve farklı biyolojik yollarla etki etmektedir. Çoğunlukla subklonal yapıda olmaları nedeniyle hastalığın seyri üzerindeki etkileri, diğer mutasyonlarla etkileşimlerine bağlıdır. Genellikle hastalığın hem kronik hem de akut formlarında kötü prognozla ilişkilidirler. Her ne kadar her zaman bağımsız prognostik göstergeler olmasalar da hastaların prognozu ve sağ kalımında önemli rol oynamaktadır. RAS mutasyonları, aynı zamanda FLT3, IDH1/2, JAK2 inhibitörleri ve venetoklaks-azasitidin kombinasyonu gibi çeşitli hedefli tedavilere karşı dirence de katkıda bulunmaktadır (Alawieh vd, 2024).

İnsanlarda RAS kaynaklı hücresel dönüşüm, koruyucu protein PP2A'nın inhibisyonunu gerektirmektedir. Ancak RAS ve PP2A aktivitelerinin kanserde nasıl iç içe geçtiği henüz kapsamlı olarak incelenmemiştir. Yapılan çalışmalar, RAS ve PP2A tarafından birlikte düzenlenen fosforilasyonların, HDAC1/2, KDM1A ve TP53BP1 gibi epigenetik düzenlemede önemli olan proteinleri etkilediğini göstermektedir. RAS aktivasyonu ve PP2A inhibisyonu, onkogenik genlerin aktivasyonuna, ökromatinin artmasına ve DNA metilasyonunun azalmasına yol açmaktadır. Bu veriler, epigenetik komplekslerin kanserde RAS ve PP2A sinyal yollarının çarpıştığı kilit noktalar olduğunu göstermekte ve ileri araştırmalar için yön sağlamaktadır (Aakula vd, 2023).

Ran proteini ile hepatosellüler karsinomlu (HCC) hastaların prognozu arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmaya göre; Ran mRNA ekspresyon düzeyinin ve promotörünün metilasyonunun prognostik değeri olduğu bulunmuştur. Metilasyon ile Ran ekspresyonu arasında ters bir ilişki vardır; yüksek metilasyon, azalmış ekspresyonla ilişkilidir. Yüksek Ran ekspresyonu, hastalığın daha ileri evreleri ve daha kötü prognoz ile ilişkilidir. Ayrıca Ran ile bağımsızlık faktörleri arasında da bir bağlantı tespit edilmiştir. Bulgular, diğer kanser türlerinde gözlemlenen bulgularla örtüşmektedir. Ran'ın kolorektal, meme ve baş-boyun kanserleri de dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinde, çevredeki tümör dışı dokulara kıyasla aşırı ifade edildiği bulunmuştur. Bu vakalarda yüksek Ran düzeyleri kötü prognozla ilişkilidir. Ran aktivasyonu, büyüme faktörü heregulin'e yanıt olarak meydana gelir ve mRNA işlenmesini etkiler. Yapılan çalışmalar, Ran'ın kanser gelişimi ve ilerlemesinde; çoğalma, hücrenin hayatta kalması ve metastaz gibi süreçlerde rol oynadığını göstermektedir (Liu vd, 2022).

Küçük Ras GTPazlar, miyofibroblast aktivasyonu ve hücre dışı matris (ECM) proteinlerinin birikimi gibi böbrek fibrozuyla ilişkili hücrel süreçlerde önemli roller oynarlar. Bu moleküller, fibrozis gelişimi sırasında TGF- β 1 sinyallemeyle yakın etkileşime girer. In vitro ve in vivo çalışmalar, Ras ve onun etkileyicileri olan ERK ve AKT'nin ECM sentezini, miyofibroblast aktivasyonunu ve böbrek epitel hücrelerinin sağkalımını veya ölümünü etkilediğini göstermektedir (Félix ve Salgado, 2021).

DIRAS3, RAS'a benzer bir GTPaz üreten bir tümör baskılayıcı gen olup, N-terminalinde RAS fonksiyonunu inhibe eden benzersiz bir kısım bulunmaktadır. Sadece babadan gelen alel tarafından ifade edilir ve yumurtalık, meme, akciğer ve beyin kanserleri de dahil olmak üzere birçok kanser türünde ifadesinin kaybolması yaygındır. DIRAS3 yeniden aktive edildiğinde PI3K/AKT, JAK/STAT ve RAS/MAPK sinyal yollarını inhibe ederek tümör hücrelerinin büyümesini, hareketliliğini ve kanlanması durdurur. Ayrıca otofajiyi teşvik eder ve tedavilere dirençli uykudaki hücreler için bir biyobelirteç görevi görebilir ve bu durum onu yeni kanser tedavileri için önemli bir hedef haline getirmektedir (Bildik vd, 2022).

Juvenil miyelomonositik lösemi (JMML), vakaların %90'ından fazlasını oluşturan PTPN11, NRAS, KRAS, CBL ve NF1 gibi RAS yolağı genlerindeki germ hattı veya somatik mutasyonlarla ilişkilidir. SETBP1, ASXL1 ve JAK3'teki ek mutasyonlar hastalığın ilerlemesine katkıda bulunmaktadır. Bazı vakalarda CBL ve PTPN11 mutasyonlarında kendiliğinden gerileme gözlenmiştir; ancak hastaların çoğunda kök hücre nakli hâlâ tek etkili tedavi yöntemidir. JMML, erişkinlerde görülen kronik miyelomonositik lösemi (pCMML) ile benzerlikler gösterir; ancak ikincisinden farklı olarak JMML, epigenetik mutasyonların hastalığın ilerlemesinde önemli rol oynadığı saf bir RASOpatiyi temsil eder (Lasho ve Patnaik, 2020).

Ras GAP ailesinin bir üyesi olan RASA3, RAS p21 proteininin aktivitesinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Bir çalışmada, bu genin karmaşık bir nörogelişimsel bozukluk olan otizm spektrum bozukluğu (OSB) ile olası ilişkisi incelenmiştir. Otizmlili 19 çocuk ve sağlıklı kardeşleri, RASA3 ve transkripsiyon faktörü Sp1 ekspresyonu ile RASA3 promotör bölgesinin metilasyonu açısından analiz edilmiştir. Sonuçlar, RASA3 ile Sp1 ekspresyonu arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermiş olup bu bölgelerde DNA metilasyonunda belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu durum, Sp1'in RASA3 ekspresyonunu etkilediğini; incelenen bölgedeki metilasyonun ise otizmde belirgin bir rolünün olmadığını düşündürmektedir. Metilasyonun genin diğer alanları üzerindeki etkisinin araştırılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (Algothmi vd, 2021).

PTPRR, RAS mutasyonlu akciğer adenokarsinomu da dahil olmak üzere tümörlerin gelişiminde önemli olan MAPK sinyal yolunu etkileyen bir fosfatazdır. Bu kanser türünde RAS'taki mutasyonlar, MAPK sinyalleşmesinin aşırı aktivasyonuna yol açar; ancak PTPRR'nin kesin rolü henüz net değildir. Klinik verilerden yapılan analizler, düşük PTPRR düzeylerinin daha kötü prognozla ilişkili olduğunu göstermiştir. PTPRR yapay olarak ifade edildiğinde, kanser hücrelerinin büyümesini ve hareketini engellemektedir. PTPRR, ERK1/2 fosforilasyonunu inhibe etmek için SHP2 ile etkileşime girmekte, HDAC inhibitörleri, PTPRR promotöründe histon asetilasyonunu artırmakta ve ekspresyonunu eski haline getirmektedir. Laboratuvar modellerinde HDAC inhibitörü (SAHA) ve SHP2 inhibitörü (SHP099) ile kombine tedavinin, kanser yayılımını durdurmada etkili olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular, PTPRR aktivasyonu ve SHP2 inhibisyonu yoluyla RAS mutasyonlu akciğer kanseri için yeni bir tedavi yaklaşımını önermektedir (Du vd, 2024).

Ras ile ilişkili GTPaz ailesinin bir proteini olan RRAD, esas olarak sitoplazmada bulunmakta ve hücre zarı ile etkileşmektedir. Tip 2 diyabetli hastalarda yüksek oranda ifade edilmekte olup, konjestif kalp yetmezliği ile ilişkilidir. Yapılan çalışmalar, RRAD'ın tümörlerin gelişiminde ve yayılmasında önemli rol oynadığını; kanser türüne göre tümör büyümesini destekleyici veya inhibitör olarak farklı etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır (Sun vd, 2023).

RAS yolağı, hücre bölünmesi ve büyümesinde önemli bir rol oynar ve aktivasyonu hepatosellüler karsinom (HCC) gelişimi ile ilişkilidir. Ancak bu yolağın genetik varyantlarının HBV kaynaklı HCC'li hastaların sağ kalımı üzerindeki etkisi yeterince araştırılmamıştır. Bu çalışmada, HBV ile ilişkili HCC'li 866 hastada 62 RAS yolağı genindeki 11.658 SNP analiz edilmiştir. Hastalığın ilerlemesi üzerinde bağımsız etkiye sahip olduğu gösterilen ve sağ kalımla anlamlı şekilde ilişkili olan üç genetik varyant (SOS2, RASGRP2 ve MAP2K1) tanımlanmıştır (Lin vd, 2023).

SYNGAP1, beyin gelişimi ve sinaptik plastisitede önemli rol oynayan Ras GTPaz'ın bir aktivatörüdür. Bu gendeki heterozigot mutasyonlar, zihinsel engellilik (ZE) ve otizm spektrum bozukluğu (OSB) gibi nörogelişimsel bozukluklarla ilişkilidir. Nörofizyolojik yönleri incelenmiş olmasına rağmen, SYNGAP1 mutasyonlarının epigenetik etkisi derinlemesine araştırılmamıştır. SYNGAP1'in kısmi eksikliği olan farelerde yapılan çalışmalarda, histon asetilasyonunun azaldığı ve dendritik dallanmanın azaldığı; bunun da hipokampüste nörogenezin bozulduğunu gösterdiği görülmüştür. Asetilasyonu p300/CBP aracılığıyla aktive eden küçük bir molekül (CSP-TTK21) ile yapılan tedavi, sinaptik işlevleri ve davranışı iyileştirdiği gibi Adcy1, Ntrk3, Egr1 ve Foxj1 gibi nörogelişimle ilgili genlerin ifadesini de geri kazandırmıştır. SYNGAP1 aracılığıyla RAS yolunu etkileyen epigenetik müdahalenin, ASD/ID

ile ilişkili fenotipleri düzeltmeye yardımcı olabileceği öne sürülmektedir (Singh vd, 2025).

Klasik Ras sinyalleme PI3K/AKT ve RAF/MEK yollarını içerir; ancak çalışma, Ras GTP'nin yeni, kanonik olmayan bir işlevini ortaya çıkarmıştır. Bu işlev, klasik sinyalleme yollarından bağımsız olarak XPO1 aracılığıyla nükleer proteinlerin sitoplazmaya ihracatını uyarır. Bu mekanizma, proteinlerin çekirdekten salınmasına yardımcı olan Ras GTP'nin RanGAP1 ile etkileşimi ile gerçekleşmektedir. Önemli bir örnek, tümörlere karşı koruyucu bir işlevi olan bir protein olan DLC1'in bozunmasını teşvik eden EZH2'nin ihracatıdır. Bu ihracatı engellemek, KRAS inhibitörlerinin kanser karşıtı etkisini artırabilir ve DLC1'in baskılayıcı işlevini güçlendirerek kanser tedavisi için yeni bir strateji sunabilir (Tripathi vd, 2024).

Ras GTPaz süper ailesinin bir üyesi olan diyabetle ilişkili Ras (RRAD), hücre sinyalizasyonunun ve bağışıklık tepkisinin düzenlenmesinde rol oynar; NF- κ B yolunun inhibitörü ve kalsiyum düzenleyicisi olarak görev yapar. Japon balığı *Paralichthys olivaceus* üzerinde yapılan bir çalışmada, hastalığa dirençli bireylerde özellikle dalakta **rrad** geninin daha fazla ifade edildiği ortaya konmuştur. *Edwardsiella piscicida* enfeksiyonundan sonra **rrad** ekspresyon düzeyinde ve promotörünün yapısında değişiklikler gözlenmiştir. **RRAD**'ın baskılanması, *Il-1 β* gibi inflamatuvar genleri etkilerken; aşırı ekspresyonu hücre apoptozunu artırmıştır. Bu veriler, **rrad**'ın NF- κ B yoluyla balıkların antimikrobiyal bağışıklığında önemli bir işlevi olduğunu ve bakteriyel hastalıklara karşı direncin artmasına yardımcı olabileceğini düşündürmektedir (Zhu vd, 2024).

Rho GTPaz ve Epigenetik Faktörleri

Küçük bir GTPaz olan RHOJ, hücre göçünü ve invazyonunu teşvik ederek meme kanseri metastazında önemli bir rol oynamaktadır. TGF- β sinyallemesinin aktivasyonu, MKL1 gibi transkripsiyon faktörleri aracılığıyla RHOJ ekspresyonunu artırır. Çalışmalar, MKL1 eksikliğinin RHOJ promotöründe transkripsiyon kompleksinin oluşumunu inhibe ederek H3K9/H3K27 histonlarının metilasyonunu etkilediğini göstermektedir. TGF- β 'nin RHOJ'u aktive etmesi için demetilaz enzimi KDM7A'nın gerekli olduğu keşfedildi. MKL1, transkripsiyonu kolaylaştırmak için KDM7A'yı bu promotöre dahil eder. KDM7A'nın bozulması, hem in vitro hem de fare modellerinde kanser hücrelerinin göçünü ve metastazını azaltır. Aynı şekilde KDM7A ve RHOJ düzeyleri de prognostik gösterge olarak kullanılabilir. KDM7A'nın promotörüne bağlanan SMAD2/SMAD4 kompleksi aracılığıyla TGF- β sinyallemesinin doğrudan hedefi olduğu bilinmektedir. Bu veriler yeni bir epigenetik mekanizmayı ortaya koymakta ve KDM7A inhibisyonunun meme kanserine karşı yeni tedavi fırsatları sunabileceğini düşündürmektedir (Zhang vd, 2021).

Cdc42, Rho ailesinden küçük bir GTPaz olup, aktin hücre iskeletinin, hücre polaritesinin, morfolojisinin, göçünün, hücre döngüsünün ve hücre içi taşımacılığın düzenlenmesinde önemli işlevlere sahiptir. Bu ailenin en eski üyelerinden biri olarak çoğu dokuda ifade edilir ve hücre fonksiyonunda önemli bir rol oynar. Yapılan çalışmalar Cdc42'nin düzensizliğinin hücre yaşlanma ve nörodejeneratif, kardiyovasküler hastalıklar, tip 2 diyabet ve iskelet bozuklukları gibi yaşa bağlı patolojilerle ilişkili olduğunu göstermektedir. Cdc42 inhibisyonu yaşlanma karşıtı tedavilerde umut vadeden bir strateji olarak önerilmiştir. Ancak aktivitesi doku tipi ve hormonal durum gibi çeşitli faktörler tarafından düzenlenmektedir (Umbayev vd, 2023).

Menin, MLL kompleksinin (menin/karışık soyağaçlı lösemi) oluşumunda rol oynamaktadır. Kras G12D mutasyonu tarafından tetiklenen akciğer kanseri gelişiminde MLL'nin genetik olarak kaldırılması, H3K4me3 seviyelerini azaltmakta ve Rasgrfl'in ekspresyonunu baskılamaktadır. Bu durum Kras'ın aktif formunun azalmasına ve onkogenik yollarının engellenmesine yol açmaktadır. MLL'yi hedef alan MI-3 inhibitörü, Kras mutasyonu taşıyan akciğer kanseri hücrelerinin büyümesini engelleme konusunda etkili olup Kras normal hücrelerde önemli bir etki göstermemektedir. Bu veriler, MLL-Rasgrfl yolunun, Kras mutasyonlarına sahip kanserler için hedeflenmiş tedavi olarak umut verici bir hedef oluşturduğunu öne sürmektedir (Zhu vd, 2022). Metilasyon profili ve transkriptomun ortak analizi, hücreler arası bağlantı bileşenlerinde (okludin gibi), aktin hücre iskeletinin organizasyonunda (ezrin) ve Rho GTPazlarını içeren RhoA ve Cdc42ep4 dahil sinyal yollarında değişiklikler olduğunu göstermiştir (Phillips vd, 2023).

TC10 benzeri (TCL), kanser oluşumunda rol oynayan küçük bir GTP'dir. Kolorektal kanser de dahil olmak üzere birçok kanser türünde yüksek TCL düzeyleri gözlemlenmiştir, ancak bunu düzenleyen epigenetik mekanizmalar hala belirsizdir. Bir çalışma hipoksinin MRTF-A faktörünün aktivasyonu yoluyla HT-29 hücrelerinde TCL ekspresyonunu artırdığını göstermektedir. MRTF-A, TCL promotörüne bağlanır ve histon H4K16 asetilasyonunu artıran ve TCL transkripsiyonunu destekleyen asetiltransferaz hMOF'u harekete geçirir. MRTF-A veya hMOF'un inhibisyonu TCL ekspresyonunu azaltır ve korunan göç ve invazyonu durdurur. MRTF-A/hMOF/TCL ile ilişkili bu genler kolorektal kanserin yayılmasında önemli rol oynamaktadır (Chen vd, 2020).

Cdc42, Rho ailesinden küçük bir GTPazdır, evrimsel olarak korunmuştur ve aktin hücre iskeleti organizasyonu, hücre polaritesi, göç, hücre döngüsü ve çoğalma gibi çeşitli hücre fonksiyonlarında rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalar Cdc42 hastalıklarının yaşlanma süreci ve buna eşlik eden nörodejeneratif, kardiyovasküler, tip 2 diyabet, eklem ve kemik hastalıkları gibi hastalıklarla ilişkili olduğunu ileri sürmektedir. Hayvan modellerinde inhibisyonunun ümit

verici yaşlanma karşıtı etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Ancak Cdc42'nin ekspresyonu ve aktivitesi tümör tipi veya hormonal seviyeler gibi çeşitli faktörler tarafından kontrol edilmektedir (Umbayev vd, 2023).

Üçlü negatif (TN) meme kanseri, ER (östrojen reseptörü), PR (progesteron reseptörü) ve HER2 (insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2) ekspresyonu olmayan agresif bir formdur ve sıklıkla hızlı metastaz ve kötü prognoz ile ilişkilidir. Bu tümörde onkogen olarak görev yapan ID4 (DNA bağlama 4 inhibitörü) proteini aşırı ifade edilir ve agresifliklerine katkıda bulunur. Kolorektal kanser gibi diğer durumlarda ise CDC42, promotörünün hipermetilasyonu yoluyla ID4 tarafından ifade edilebilmektedir. ID4'ün kanserde de aktif olduğu göz önüne alındığında, CDC'nin epigenetik olarak ID4'ü azaltarak kanser metastazının agresif özelliklerini engellemekte olduğu gözlenmiştir (Nasif vd, 2022).

Son çalışmalar, miRNA'ların RhoGEF, RhoGAP ve RhoGDI gibi Rho GTPaz düzenleyicilerini hedef alabileceğini ve bunların aktivitesini doğrudan etkileyebileceğini göstermiştir. Bu durum, kanser metastazında miRNA aracılı suçların rolünü vurgulamakta ve yeni düzenleyici mekanizmaların önünü açmaktadır (Humphries vd, 2020).

RAC1 ve alternatif izoformu RAC1B, Rho GTPaz ailesinin bir parçasıdır ve hücre iskeletinin düzenlenmesinde, hücre hareketinde, çoğalmada ve epitel-mezenkimal geçişte (EMT) rol oynamaktadır. RAC1B, doku dağılımı, sinyalleme ve kanser ve inflamasyon gibi hastalıklar üzerindeki etkisi bakımından RAC1'den farklıdır. Aktif durumlarına bağlı olarak yerleşimleri ve etkileşimleri farklılık gösterir ve bu da onları TGF β yolu da dahil olmak üzere tümörle ilişkili sinyal yollarında önemli hale getirir. Tümör ilerlemesini TGF β aracılığıyla destekleyen RAC1'in aksine, RAC1B'nin pankreas karsinomunda TGF β kaynaklı EMT'yi inhibe ettiği gösterilmiştir; bu da anti-onkojenik bir etkiye işaret etmektedir. RAC1B seçici bir şekilde etki ederek tümör büyümesini destekleyen yolları bloke eder ve engelleyen yolların açılmasına izin vermektedir. Bu derlemede, RAC1B'nin reseptörler, sitozolik mediatörler ve hücre dışı inhibitörler gibi çeşitli faktörlerle etkileşimi yoluyla TGF β sinyallesini etkileme yollarına odaklanılmıştır (Ungefroren vd, 2020).

Son araştırmalar, KDM2B demetilazın DU-145 ve HCT-116 tümör hücrelerinde epitel belirteçleri E-Kaderin ve ZO-1, GTPazlar RhoA/B/C ve aktin hücre iskeleti organizasyonunu etkilediğini göstermektedir. Bu hücrelerdeki FAK aktivitesi, FAK proteininin ifadesinde bir değişiklik olmaksızın KDM2B seviyesinden etkilenmektedir. KDM2B'nin aşırı ekspresyonu hücre göçünü önemli ölçüde artırdı; bu etki PI3K inhibitörü LY294002 ile bloke edildiğinde, FAK/PI3K sinyallesinin dahil olduğunu düşündürmektedir. Benzer şekilde,

KDM2B'nin baskılanması p85-PI3K alt biriminin ekspresyonunu azaltırken, aşırı ekspresyonu ise arttırmaktadır (Inaba vd, 2021).

Rho ve Ras ailelerinin küçük GTPazları, hücre iskeletinin yeniden organizasyon, hücre bölünmesi ve farklılaşmada önemli roller oynamaktadır. Bu süreçlerde kalsiyum (Ca^{2+}) da önemlidir, ancak etkileşimleri henüz tam olarak incelenmemiştir. Bu nedenle araştırmacılar GTPazların (RhoA, Rac1, Cdc42, Ras, Rap ve Ral gibi) aktivasyonunu kontrol etmek için optogenetik araçlar geliştirdiler ve bunların farklı hücrelerdeki kalsiyum sinyalleme üzerindeki etkilerini gözlemlədiler. Sonuçlar RhoA aktivasyonunun RPE1, HeLa, MDCK ve HEK293T gibi çeşitli hücre tiplerinde hücre içi kalsiyum seviyelerinde ani bir artışa neden olduğunu gösterdi. Ancak mekanizma hücre tipine göre değişmekteydi. Bazı vakalarda PLC ϵ aktivasyonu ve endoplazmik retikulumdan Ca^{2+} salınımı rol oynarken, bazılarında RhoA-ROCK-miyozin II yolu rol oynuyordu. Bu veriler, hücre kasılması ve gen ifadesinin düzenlenmesi gibi süreçlerde RhoA ile kalsiyum sinyalizasyonu arasında önemli ve genel bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir (Inaba vd, 2021).

Yetişkinlerde kemik yeniden şekillenmesi osteoblastlar ve osteoklastlar arasındaki denge tarafından kontrol edilir; bu süreç Camurati-Engelmann (CED) gibi hastalıklarda bozulabilir. TGF- β 1 genindeki (R218C) heterozigot mutasyon, faktörün aşırı aktivasyonuna yol açarak Rho GTPaz sinyallemesini teşvik eder. Yapılan bir çalışmada, CED hastalarında hücre göçü ile ilişkili Rho GTP ve integrinlerde önemli artışlar olduğu, bunun da osteoklast aktivitesini ve kemik rezorpsiyonunu artırdığı gösterilmiştir. TGF β 1 tarafından Rho aktivasyonu, pre-osteoklastlarda göçü ve sitoskeletal değişiklikleri teşvik ederek aşırı osteoklast oluşumuna yol açar. Rho GTPazlarının inhibisyonu bu etkileri in vitro olarak etkili bir şekilde engellendiğinde TGF- β 1-Rho yolunun CED ve kemik malign hastalıklarında önemli bir bileşen olduğunu düşündürmektedir (Chen vd, 2022).

Rho GTPazlar, aktin hücre iskeletinin ve diğer hücre fonksiyonların düzenlenmesinde anahtar görevi gören önemli moleküllerdir. Düzenleyicilerimizden biri de sinir sistemi tiplerinin p120-katenin ailesinden bir protein olan delta-katenindir. Sinapslar, öğrenme ve hafıza için önemli yapılar olan dendritlerin ve dendritik dikenlerin oluşumunu ve stabilitesini Rac1 ve Cdc42 gibi Rho GTPazlarının aktivasyonunda delta-katenin belirlemektedir. Bu proteinin düzensizliği ve Rho GTPazları üzerindeki etkisi nörolojik hastalıklar ve kanserle ilişkilendirilmiştir. Gelecekteki araştırmalar, delta-katenin'in N-kadherin ve PDZ proteinleri gibi diğer proteinlerle nasıl etkileştiği, Rho GTPazlarının kontrolünü nasıl bozduğu ve Alzheimer, ASD ve çeşitli kanser türleri gibi çeşitli hastalıklarda nasıl rol oynadığı hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç bulunmaktadır (Donta vd, 2022).

Akciğer adenokarsinomu (LUAD), akciğer kanserinin en sık görülen türü ve kanser kaynaklı ölümlerin önde gelen nedenidir. Rho GTPaz ailesinin bir üyesi olan ve Cdc42'ye benzeyen RhoQ, nöronlardaki ve glikoz taşınmasındaki fonksiyonuyla bilinmektedir. Bir çalışmada, A549 ve PC-9 hücrelerinde RhoQ ekspresyonunun azalması, TGF- β 'nin indüklediği EMT (epitelyalden mezenkimale geçiş) süreçlerine ve hücre invazivliğinin artmasına neden olmuştur. Smad3 fosforilasyonu ve Snail ekspresyonunun artmasıyla TGF- β /Smad yolunun aktivasyonu gözlenmiştir. Yapılan analizler düşük RhoQ düzeylerinin LUAD hastalarında daha kötü prognozla ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar RhoQ'nun akciğer kanserinde TGF-b kaynaklı EMT'yi inhibe ederek koruyucu bir rol oynadığını düşündürmektedir (Satoh vd, 2022).

C57BL/6.NOD-Aec1Aec2 faresi, ekzokrin bezini etkileyen bir otoimmün hastalık olan Sjögren Sendromu (SS)'nin incelenmesinde değerli bir model görevi görmektedir. B hücrelerinin, tükürük ve gözyaşı bezlerinin hasarlanmasındaki rolü bilinmemektedir, ifade sadece marjinal B hücreleri (MZB) ile sınırlıdır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda SS hastalarında bunların varlığı tespit edilmiş olup, hastalığın başlangıcında bunların rolü olabileceği düşünülmektedir. Transkriptomik analiz yoluyla, kemokinler, reseptörleri ve Rho GTPazlar dahil olmak üzere hücre göçüyle ilişkili genlerin ifadesindeki zamansal değişiklikler belirlendi. Rho GTPaz yollarının aktivasyonunun, lenfositlerin tükürük bezlerine hareketinde rol oynadığı ve etkisine katkıda bulunduğu görülmektedir. Bu bulgular SS'nin başlangıcının anlaşılmasında ve yeni yenilikçi stratejilerin önünün açılmasında etkili olacaktır (Peck vd, 2021).

Rab GTPaz ve Epigenetik Faktörleri

Rab GTPazlar, hücre içi membran trafiğinin temel düzenleyicileridir ve yaklaşık 70 üyeden oluşur. Düzensizlikleri nörodejeneratif hastalıklar, viral enfeksiyonlar ve kanser gibi birçok patolojiyle ilişkilidir. Kolorektal kanser, hepatosellüler karsinom (HCC) ve meme kanseri gibi çeşitli tümörlerde Rab proteinlerinin ekspresyonu ve epigenetik düzenlenmeleri, hastalık progresyonu ve tedavi yanıtları açısından kritik rol oynamaktadır (Yang vd, 2021; Jiang vd, 2022).

Rab1A, mTORC1 aktivasyonu yoluyla kolorektal kanseri desteklerken; Rab25 ve Rab35 PI3K-AKT yolunda, Rab2A ise p-Erk1/2 ve β -katenin ile etkileşerek meme kanseri kök hücrelerini etkilemektedir. Rab37, tümör ilişkili makrofajlarda (TAM) IL-6/STAT3 yoluyla M2 polarizasyonunu destekler. GDP-bağlı Rab37 formunun sitozolik proteinlerle etkileşerek sinyal yollarını düzenleyebileceği düşünülmektedir (Hong vd, 2025).

Hong ve arkadaşları, GDP-bağılı Rab37'nin STAT1'in nükleer translokasyonunu inhibe ettiğini ve tip I IFN yolunu baskılayarak M2 polarizasyonunu artırdığını göstermiştir. Akciğer kanseri hücrelerinden alınan şartlandırılmış ortam, epigenetik değişikliklerle Rab37 ekspresyonunu artırmış; CD163+/Rab37+/STAT1 profili kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (Hong vd, 2025).

Rab27b, kardiyak mezenkimal kök hücrelerde (C-MSC) ekzozomal salgıyı düzenler. Baskılanması glikolizi artırırken mitokondriyal oksidatif fosforilasyonu bozar, H3K4me3 düzeyini ve enerji metabolizması genlerinin ifadesini azaltır. Bu, Rab27b'nin yağ asidi metabolizmasında kritik rol oynadığını göstermektedir (Jin vd, 2020).

Kolorektal kanserli hastalarda RAB17 ve RAB34'ün aşırı ekspresyonu, hücre bölünmesi, göç ve invazyonla ilişkilidir. RAB34 ayrıca PD-L1 gibi immünoşüpresif moleküllerin artışıyla bağlantılıdır ve bu proteinler potansiyel biyobelirteçler olarak değerlendirilmektedir (Jiang vd, 2022).

Parkinson hastalığıyla ilişkili kinaz LRRK2, birçok Rab GTPazını fosforile etmektedir. PPM1H fosfatı, özellikle Rab8a gibi fosforile Rab'leri defosforile ederek LRRK2'ye karşı dengeleyici rol oynar. PPM1H'nin benzersiz flep alanı, bu özgülüğü sağlamaktadır (Waschbüsch vd, 2021).

Rab44, Rab45 ve Rab46 gibi büyük Rab GTPazlar, EF-el ve Rab alanı gibi özel yapılar içermektedir. Farklı dokularda izoform düzeyinde ifade edilen bu proteinlerin hücresel taşımacılık ve farklılaşmada rol oynadığı, hayvan modelleriyle gösterilmiştir (Tsukuba vd, 2021).

Rab26, sigara dumanı ve ROS'a maruz kalma sonucu DNA metilasyonu ile baskılanır. KOAH hastalarında Rab26 düzeyleri düşüktür; NAC ve 5-AZA gibi tedaviler ekspresyonu geri kazandırır. Rab26'nın aşırı ekspresyonu inflamatuvar yanıtı azaltarak, p38/JNK MAPK yollarını inhibe etmektedir (He vd, 2023).

Sepsiste, Rab10 EGFR'nin Golgi'den taşınmasında, Rab5a erken endositozda, Rab7a ise lizozomal degradasyonun inhibisyonunda rol oynar. EGFR fosforilasyonunun baskılanması, M1'den M2 fenotipine geçişi kolaylaştırarak sepsis kaynaklı akciğer hasarını hafifletir (Zhang vd, 2022).

RAB13, kolorektal kanserde kötü prognoz ve bağıışıklık hücrelerinin infiltrasyonu ile ilişkilidir. scRNA-Seq ve GSEA analizleri, RAB13'ün CRC hücreleri ve makrofajlarda aktif olduğunu ve paklitaksel duyarlılığıyla bağlantılı olabileceğini göstermiştir (Lv vd, 2024).

Rab GTPazların **kanser, inflamasyon ve immün yanıt** gibi süreçlerdeki rollerinden sonra **nörodejeneratif hastalıklardan özellikle Parkinson, ayrıca**

otofaji, pigmentasyon ve hücre göçü gibi farklı biyolojik süreçlerde de rol oynar.

Rab8A Fosforilasyonu ve Parkinson Hastalığı: PINK1 kinazındaki mutasyonlar otozomal resesif, LRRK2 mutasyonları ise otozomal dominant Parkinson hastalığına (PD) yol açmaktadır. PINK1, Rab8A'nın Ser111 kalıntısında fosforilasyonunu düzenleyerek LRRK2 aktivitesini baskılar. TAK1 ve MST3 kinazları da Rab8A'yı fosforile edebilir, ancak PINK1'in etkisi bu kinazları etkilemez. Ser111 fosforilasyonu, Rab8A'nın efektör etkileşimlerini ve GTPaz aktivitesini değiştirerek mitokondriyal homeostaz ile LRRK2 sinyalizasyonu arasında bağlantı kurmaktadır (Vieweg vd, 2020).

RAB3C ve Kolorektal Kanser: RAB3C, membran trafiği ve hücre hareketinde rol oynar. Kolorektal kanserde ekzositoyu artırır, distrofin ekspresyonunu tetikler ve kemoterapi direnciyle ilişkilidir. CB2 agonistleri, RAB3C kaynaklı ilaç direncini tersine çevirebilir. RAB3C-distrofin kombinasyonu kötü prognozla bağlantılıdır ve yeni tedavi stratejileri için umut vadeder (Chang vd, 2023).

Rab39A ve Otofagozom-Lizozom Füzyonu: HOPS kompleksinin otofajik füzyon için yeniden inşasında Rab39A kritik rol oynar. C9orf72 tarafından aktive edilen Rab39A, otofajik defektleri gidererek C9orf72-Rab39A-HOPS ekseninin önemini ortaya koymaktadır (Zhang vd, 2023).

RAB42 ve Hepatosellüler Karsinom (LIHC): RAB42, trans-Golgi ağına veziküler trafiği düzenler. LIHC'de aşırı ifade edilir, düşük sağ kalım ve ileri evrelerle ilişkilidir. Ayrıca m6A RNA metilasyonu ve immün infiltrasyonla bağlantılıdır; immünoterapi yanıtını öngörebilir ve kemoterapi direnci için biyobelirteç olabilir (Wang vd, 2024).

Rab29 ve Parkinson Patogenezi: Rab29, tekrar kinaz 2'nin aktivitesini artırarak PD gelişiminde rol oynar. Membranla ilişkili lokalizasyonu ve GDI'lerden ayrışma direnci, alternatif membran hedefleme mekanizmalarını düşündürmektedir (Nagai-Ito vd, 2022).

Rab44 ve Melanozom Taşınması: Rab44, melanozomların retrograd taşınmasında dinein-dinaktin kompleksiyle etkileşir. Melanoregulin ve Rab36 ile birlikte devre dışı bırakıldığında taşıma engellenir. Ca^{2+} ile düzenlenen bu süreç, Rab44'ün melanozomlar için üçüncü bir kargo reseptörü olduğunu gösterir (Maruta ve Fukuda, 2022).

Rab40 ve Hücre Göçü: Rab40 ailesi, Cullin5 ile etkileşerek E3 ubiquitin ligaz kompleksi oluşturur. Bu kompleks, aktin hücre iskeletini ve hücre göçünü modüle eder. Rab40, hücre göç mekanizmasının önemli bir düzenleyicisidir (Neumann ve Prekeris, 2023).

Arf GTPaz Ve Epigenetik Faktörleri

Lösin, Rag GTPazları aracılığıyla mTORC1 aktivasyonunu desteklerken, glutamin RagA/B eksikliği durumunda bile Arf1 üzerinden mTORC1'i aktive edebilir. Bu süreç glutamin taşıyıcılarından bağımsızdır ve lizozomal v-ATPaz gerektirir. Arf1'in inaktivasyonu TORC1 aktivitesini azaltırken, aktif formu S6K1 fosforilasyonunu inhibe eder. Ancak Arf1'in hücre içi yerleşimi ve mekanizması hâlâ net değildir (Jewell vd, 2015; Zhu ve Wang, 2020).

B hücrelerinin plazma hücrelerine dönüşümünde ARF4 kritik rol oynar. ARF4 delesyonu plazmablast gelişimini ve antikor salgısını engeller, bu da hücre içi trafik mekanizmalarının bağışıklık yanıtında önemini gösterir (Xiong vd, 2023).

ASAP1, Arf GAP olarak aktin filamentlerine bağlanarak invadopodia ve fokal adezyon oluşumunu düzenler. Bu etkileşim, hücre göçü ve invazyon gibi kanserle ilişkili süreçlerde ASAP1'i önemli bir sinyal düğümü haline getirir (Chen vd, 2020).

ARF, CDKN2a lokusundan kodlanan bir tümör baskılayıcıdır. Onkojenik stres altında MDM2'yi inhibe ederek p53'ü stabilize eder; ayrıca apoptoz, senesens ve anoikis gibi p53'ten bağımsız süreçleri de etkiler. Tümör hücreleri ARF'yi baskılayarak bu savunma mekanizmalarını devre dışı bırakabilir (Seo vd, 2020).

CXCR4 aktivasyonu, Gβγ dimerlerinin Golgi'ye taşınmasını ve PI3Kγ aracılığıyla ERK1/2 sinyal yolunun aktive edilmesini sağlar. Bu süreçte ARF1'in aktivasyonu prostat kanseri hücrelerinin göçü ve invazyonu için gereklidir (Khater vd, 2021).

MCMV enfeksiyonu, Arf GTPazlarının pre-AC membranlarına alınmasını tetikler. Arf1, Arf3, Arf4 ve Arf6'nın ekspresyonunun azaltılması pre-AC oluşumunu ve enfeksiyonun ilerlemesini engeller. Bu, Arf GTPazlarının viral enfeksiyonun erken evrelerinde kritik rol oynadığını gösterir (Pavišić vd, 2021).

Yumurtalık kanserinde EFA6R ekspresyonunun azalması kötü prognozla ilişkilidir. Epigenetik tedaviyle EFA6R düzeyinin artırılması hücre göçünü ve invazyonunu azaltır. EFA6R, Arf6'dan bağımsız olarak metastazı baskılayan bir faktör olabilir (Tamaddon-Jahromi vd, 2023).

BioID2 teknolojisiyle RICTOR'a yakın proteinler incelendiğinde, ARF1'in mTORC2 ile etkileşerek onun aktivitesini baskıladığı görülmüştür. Bu, ARF1'in hücre sinyalizasyonunda yeni bir düzenleyici rol üstlendiğini gösterir (Luciano vd, 2022).

Meme kanserinde ARF1 ve ARF3-6'nın yüksek ekspresyonu kötü klinik sonuçlarla ilişkilidir. Bu proteinler, sağ kalımı azaltır ve metastaz riskini artırır.

Ayrıca ARF düzeyleri ile tümör mikroçevresindeki bağışıklık hücreleri arasında anlamlı bir ilişki gözlemlenmiştir (Yang vd, 2024).

ASAP1'in BAR bölgesi, aktin filamentlere bağlanarak stres lifleri ve fokal yapışıklıkları düzenler. Lizin zengin bölgelerdeki mutasyonlar bu bağlanmayı engeller ve aktin organizasyonunu bozar. Bu, ASAP1 ile aktin etkileşiminin hücre iskeleti mimarisi için kritik olduğunu gösterir (Gasilina vd, 2022).

Arfrp1 ve Arl14'ün N-terminal amfipatik motifleri, hücre içi lokalizasyonlarını belirler. Bu motifler GTP bağlanmasını teşvik ederek konformasyonel değişiklikler oluşturur ve membranlara yerleşimi sağlar. Motif değişimi lokalizasyonu etkilerken, asetilasyon ve miristoilasyon bölgesel dağılım için kritiktir. GTP bağlanmadan da belirli bölgelere yönlendirilebilmeleri, Arf proteinlerinin aktivasyon ve membran ilişkilerinin bağımsız olabileceğini düşündürmektedir (Yang vd, 2020).

Arf1'in GTP değişimi sırasında geçirdiği konformasyonel dönüşümler, biyofiziksel ve hesaplamalı analizlerle incelenmiştir. Dinamik kürecik topluluğu, Arf1'in yapısal geçişlerini kolaylaştırır ve bu süreç, Arf benzeri GTPazlar için ileri araştırmalara ışık tutar (Koduru vd, 2024).

Golgi homeostazı için Arf GTPazların aktivasyonu, GBF1 gibi guanin-nükleotid değişim faktörlerine bağlıdır. GBF1'in HDS3 bölgesi membran bağlanmasında kritik rol oynar. Golgi'ye bağlandığında, Sec7d alanı bağımsız hale gelirken HDS1-3 kolları zıt yönlere uzanır. Bu konformasyonel değişim, Arf aktivasyonu ve hücresel işlevler için gereklidir (Meissner vd, 2023).

Arf GTPazlar, membran taşıyıcılarının oluşumu ve bağlanmasında görev alır. Arf6, lipid çift katmanlarına doğrudan bağlanabilirken, Arf1'in varlığı Arf6 aktivitesini baskılar. Bu heterotipik etkileşim, membran trafiğinin düzenlenmesinde önemli bir mekanizma sunmaktadır (Fujibayashi ve Mima, 2021).

Akut miyeloid lösemide (AML), ARF3'ün yüksek ekspresyonu kötü prognozla ilişkilidir. ARF3'ün susturulması hücre döngüsünü durdurur, hücre ölümünü tetikler ve lösemi gelişimini engeller. PI3K/Akt yolunu etkileyen bu mekanizma, ARF3'ü AML tedavisinde potansiyel bir hedef haline getirmektedir (Wenli vd, 2025).

Ran GTPaz Ve Epigenetik Faktörleri

Nüklear gözenek proteinleri (Nup'lar) kromatinin farklı kısımlarına bağlanarak transkripsiyonu etkiler. Mayada bu süreç Gcn4 gibi transkripsiyon faktörleri aracılığıyla gerçekleşir. Gcn4'te nükleer gözenek komplekslerine bağlanmayı engelleyen bir mutasyon, onun Crm1 ile etkileşiminin önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Korunmuş bir nükleer faktör olan Crm1, Nup2 ve

Gcn4 ile etkileşime girerek bunların DNA'ya bağlanmasına yardımcı olur. Bu bağlanma Ran-GTP'nin varlığına bağlı değildir, ancak Crm1 ve Ran-GTP birlikte Gcn4'ün DNA'ya bağlanma yeteneğini artırır. Bu, Crm1 ve Ran-GTP'nin transkripsiyon faktörleriyle etkileşim yoluyla genetik güçlendiricilerin gözenek kompleksine bağlanmasını stabilize etmeye yardımcı olduğunu düşündürmektedir (Ge vd, 2025).

GDF15, hepatosellüler karsinomun (HCC) ilerlemesinde rol oynar, ancak düzenleyici mekanizmaları henüz net değildir. Bir çalışma, transkripsiyon faktörü TCF19'un, H3K4me3 modifikasyonunu tanıyan PHD alanı aracılığıyla promotörüne bağlanarak GDF15 ekspresyonunu artırdığını göstermektedir. TCF19 ayrıca HCC hücre proliferasyonunu ve hepatik hücre aktivasyonunu da teşvik eder. Ras ile ilişkili bir nüklear protein olan RAN, TCF19'un nüklear lokalizasyonunda rol oynar ve bu sayede GDF15'in artışı etkiler. Bu durum, RAN'ın TCF19 üzerindeki etkisi yoluyla GDF15'in düzenlenmesine yardımcı olarak HCC gelişimine katkıda bulunduğunu düşündürmektedir (Liu vd, 2025).

Mitotik iğ ipliği oluşumu, importin- α/β 'dan iğ ipliği birleştirme faktörlerinin (SAF'ler) salınması yoluyla Ran proteini tarafından düzenlenen bir süreç olan kontrollü mikrotübül (MT) çekirdeklenmesini gerektirir. Bu SAF'ler kromozomların etrafında bir eğim oluştururlar. MT'lerin büyük bir kısmı genellikle augmin kompleksini gerektiren dallanma yoluyla oluşur. Bu çalışma, RanGTP'nin, Haus8 alt ünitesinin importinlerle etkileşimi yoluyla, TPX2 yokluğunda bile, doğrudan augmin'i düzenleyebileceğini göstermektedir. Augmin, nüklear lokalizasyon dizileri aracılığıyla Ran'dan etkilenecek MT'lere bağlanır ve mitotik iğ ipliğinin oluşumuna yardımcı olur. Bu, Ran tarafından mikrotübül nükleasyonunun kontrol edilmesine yönelik yeni bir mekanizmayı ortaya koymaktadır (Kraus vd, 2023).

Sentromerik heterokromatin, stabilitesine katkıda bulunan HP1 α ve histon varyantları gibi proteinleri içerir. Kromatin faktörü CFDP1'in bu heterokromatinin korunması için gerekli olup, mitotik iğ oluşumu için Ran GTPaz aktivitesini doğrudan etkilediğini göstermektedir. CENPA ve H2A.Z gibi bileşenlerin kaybı, RCC1'in heterokromatine bağlanmasını azaltır, RanGTP üretimini azaltır ve mikrotübül nükleasyonunu inhibe eder. CFDP1 yokluğunda ANP32E inhibisyonu yoluyla H2A.Z'nin geri kazanılması, RanGTP düzeylerinin geri kazanılmasına yardımcı olur ve iğ ipliği oluşumuyla ilişkili kusurları iyileştirir. Bu veriler heterokromatin yapısı ile Ran'ın hücre bölünmesini kontrol etmesi arasında önemli bir bağ olduğunu ortaya koymaktadır (Gopinathan vd, 2024).

Pankreas kanal adenokarsinomu (PDAC), en agresif kanser türlerinden biridir. Son yapılan bir çalışmada, Ran GTPaz proteininin önemli bir düzenleyicisi olan RCC1'in PDAC'de aşırı eksprese edildiği ve kötü prognoza ilişkili olduğu ortaya

konmuştur. RCC1, nüklear taşıma için gerekli olan Ran gradyanının oluşmasına yardımcı olur. RCC1'in susturulması veya nakavt edilmesi tümör hücre çoğalmasını azaltır, hücre döngüsünü etkiler, apoptozu artırır ve göçünü engeller. Benzer şekilde RCC1 eksikliği Ran lokalizasyonunu bozar ve hücre içi proteomu bozarak metabolik yolları etkiler. Hücrelerin gemcitabine duyarlılığının da artması, RCC1'in Ran'ın modülasyonu yoluyla PDAC için potansiyel bir terapötik hedef olduğunu düşündürmektedir (Bannoura vd, 2024).

Ran GTPazı, sitoplazmik Ran gradyanının yaratılması yoluyla nükleositoplazmik taşımanın sürdürülmesinde önemli bir rol oynar. Yaşlanan veya Progeria Sendromundan etkilenen hücrelerde bu eğim bozulur, bu da büyük boyutlu proteinlerin çekirdeğe taşınmasını ve çekirdekteki Ran konsantrasyonunu azaltır. Bunun sonucunda çekirdeğin yapısında, çekirdeğin boyutunda artış, hücre başına düşen çekirdek sayısında azalma gibi yaşlanmanın göstergesi olan değişiklikler meydana gelir. Ran, çekirdeğe girmek için Ran gradyanına ihtiyaç duyan nükleolin ve nükleofosmin gibi nüklear fonksiyon için gerekli proteinlerin taşınmasına yardımcı olur. Ran gradyanının sürdürülmesi için gerekli olan heterokromatin, yaşlanma sırasında azalır; bu da bu gradyanın kromatin durumuna hassas bir şekilde bağlı olduğunu ve kararlı nüklear yapı için gerekli olduğunu gösterir (Remlein ve Paschal, 2020).

Ran GTPaz'ın kolorektal kanser (CRC) hastalarında, özellikle metastatik dokularda, arttığı ve hastanın kötü prognozu ile ilişkili olduğu görülmektedir. Ran ekspresyonunun azaltılması, hem laboratuvar modellerinde hem de hayvanlarda CRC hücrelerinin çoğalmasını ve metastazını engeller. Ran, EGFR/ERK/AKT sinyal yollarını aktive ederek etki eder. Ayrıca miR-802'nin Ran'ı inhibe eden, tümör hücresi büyümesi ve metastazına karşı etki gösteren bir yukarı akış düzenleyicisi olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular miR-802/Ran/EGFR ekseninin kolorektal kansere karşı yeni tedaviler için umut verici bir hedef olabileceğini düşündürmektedir (Remlein vd, 2020).

Hepatosit karsinomu (HCC), yüksek mortaliteye sahip agresif bir tümördür. Ras süper ailesinden Ran'ın prognostik rolü net olmamakla birlikte, yapılan çalışmalarda Ran mRNA düzeylerinin HCC dokularında belirgin şekilde yüksek olduğu gösterilmiştir. ROC analizleri, Ran ekspresyonunun 1, 3 ve 5 yıllık sağ kalım için anlamlı öngörücü değer taşıdığını ortaya koymuştur. Cox regresyon analizi, Ran'ın bağımsız bir prognostik faktör olduğunu doğrulamaktadır. Ran ekspresyonu, promotör metilasyonu ile negatif korelasyon gösterir. Yüksek Ran düzeyleri ve hipometilasyon, kötü sağ kalım ve hastalık ilerlemesiyle ilişkilidir. Ayrıca Ran, immün infiltrasyon ve diğer immünolojik belirteçlerle bağlantılıdır (Liu vd, 2022).

RCC1 (kromozom yoğunlaşma düzenleyicisi 1), Ras benzeri bir G proteini olan Ran'ın guanin nükleotid değişiminde önemli bir faktördür. Çeşitli fizyolojik

aktiviteler için önemli olan RanGTP gradyanını oluşturmak için kromatin ve Ran ile etkileşime girer. RCC1, nüklear zarfın oluşumu ve işlevi, iğ ipliği oluşumu ve nüklear taşınımında önemli bir role sahiptir. Bu proteinin hücre döngüsü üzerinde büyük etkisi vardır ve tümör oluşumuyla yakından ilişkilidir. Son araştırmalar RCC1'i tümör gelişimi ve ilerlemesine katkıda bulunan potansiyel bir faktör olarak görmektedir; bu, tümör büyümesini ve yayılmasını yönlendiren hücresel süreçler üzerindeki etkisi de içermektedir (Ren vd, 2020).

Ran yolu, nükleositoloplazmik taşımada aktif Ran'ın NLS (nüklear lokalizasyon sinyali) taşıyan proteinleri serbest bırakmasıyla bilinir. Mitoz sırasında nüklear zarfın parçalanmasıyla oluşan Ran gradyanı, kromatine yakın bölgelerde yoğunlaşır ve mitotik iğ ipliği oluşumunu destekler. Aktif Ran, importinleri serbest bırakarak NLS içeren faktörlerin işlev kazanmasını sağlar. Ayrıca aktinomiyozin dinamikleri, polar cisim atılması ve kortikal düzenleyici bağlantıların stabilizasyonu gibi süreçlerde de görev alır (Ozugergin ve Piekny, 2021).

Hücre bölünmesi sırasında genetik bilginin dağıtımı, mitotik iğ ipliğinin doğru bir şekilde bir araya gelmesini ve kromozomların ayrılmasını gerektirir. Ran GTPaz bu süreçte önemli bir rol oynar. Bu çalışma, Ran ve Mog1 faktörlerinin mitoz sırasında Ran'ın translasyon sonrası modifikasyonlarını düzenlemek için işbirliği yaptığı yeni bir mitotik etkileşimi ortaya koymaktadır. Yapılan analizler Mog1'in Ran'a bağlanmak için RCC1 ile rekabet ettiğini ve RCC1'den GTP yüklenmesini engellediğini göstermiştir. Ayrıca Ran, Ran'ı asetilleyen ve Mog1'in kendisine bağlanmasını engelleyen TIP60'ın bir substratıdır. Bu asetilasyon, mitoz sırasında kromozom hizalanması için önemli olan Ran-GTP seviyesini artırır. Bu çalışmada, Ran-GTP düzeylerini kontrol eden ve mitozda kromozom ayırımına yardımcı olan yeni bir düzenleyici mekanizma açıklanmaktadır (Bao vd, 2018).

Pankreas duktal adenokarsinomu (PDAC), oldukça ölümcül bir malign hastalık olup, mevcut tedavi seçenekleri oldukça sınırlıdır. Yapılan bir çalışmada, nükleositoloplazmik taşımada görev alan guanin-GTP değişim faktörü RCC1'in PDAC'deki rolü incelenmiştir. RCC1 ekspresyonunun PDAC dokularında belirgin şekilde arttığı ve kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir. RCC1'in susturulması, PDAC hücrelerinin proliferasyonunu ve göçünü azaltırken, apoptozu artırmakta ve hücre döngüsünü etkilemektedir. Transkriptomik analizler, RCC1 baskılanmasının Wnt başta olmak üzere çeşitli sinyal yollarının aktivitesini değiştirdiğini ve Ran'ın hücre içi lokalizasyonu ile gradyanını etkilediğini ortaya koymuştur. Ayrıca RCC1 susturulmuş hücrelerde proteomik ve metabolik yolların da değiştiği gözlemlenmiştir. İn vivo modellerde RCC1 knockout (KO) tümör büyümesini azaltmakta ve gemcitabine kemoterapisine karşı duyarlılığı artırmaktadır. Bu bulgular, RCC1'in PDAC'de terapötik yanıtı

iyileştirmek amacıyla hedeflenebilecek potansiyel bir molekül olduğunu göstermektedir (Bannoura vd, 2024).

Hepatosit karsinomu (HCC), yüksek mortalite oranına sahip kötü huylu bir tümördür ve Ras süper ailesinin bir üyesi olan Ran'ın prognozdeki rolü hala tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Bir çalışma, Ran mRNA ekspresyonunun HCC dokularında normal dokulara göre arttığını göstermektedir. ROC eğrisi analizi, Ran ekspresyonunun HCC hastalarının sağ kalımının bir öngörücüsü olduğunu ve kısa ve uzun vadeli sağ kalımla anlamlı bir ilişki gösterdiğini ortaya koydu. Ayrıca Cox regresyon analizi Ran ekspresyonunun bağımsız bir prognostik faktör olduğunu doğruladı. Ran'ın yüksek ekspresyonu aynı zamanda promotörünün hipometilasyonu ile de ilişkilidir ve bu model HCC'nin düşük hayatta kalma oranını ve hızlı ilerlemesini öngörmektedir. Ran'ın ayrıca bağışıklık infiltratları ve bağışıklıkla ilişkili genetik faktörlerle de önemli bir ilişkisi bulunmaktadır (Liu vd, 2022).

Ran GTPaz, çekirdekte RCC1 tarafından üretilen RanGTP'nin taşıma kompleksleri üzerindeki doğrudan etkisiyle nükleer taşımayı düzenler. Ran'ın RCC1 ile etkileşimi, interfaz evresindeki hücrelerde bir Ran gradyanı oluşmasına neden olur. Hutchinson-Gilford progeria sendromunda (HGPS), heterokromatin azalmasına yol açan lamin A'nın mutant formu nedeniyle bu gradyan bozulur. Yapılan çalışma, normal fibroblastlarda G9a ve GLP gibi histon metiltransferazların (HMT) inhibisyonunun, HGPS'deki bozulmaya benzer şekilde Ran gradyanını etkilediğini göstermektedir. Ran gradyanındaki bu bozulma, TPR ve ATM gibi büyük proteinlerin nükleer ithalatında aksaklıklara yol açmaktadır. Bu mekanizma, nükleer taşıma süreçleri ve iyonlaştırıcı radyasyon sonrası γ -H2AX üretimi dahil olmak üzere DNA hasarına verilen yanıt açısından kritik öneme sahiptir. Elde edilen veriler, Ran gradyanının DNA taşınması ve onarımının sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesi için temel bir düzenleyici rol oynadığını ortaya koymaktadır (Dworak vd, 2019).

Yapılan bir araştırmada, XPO5rs34324334 ve RANrs14035 genetik varyantları ile hepatosellüler karsinom (HCC) duyarlılığı arasındaki ilişki incelendi. 234 katılımcıdan oluşan bir grupta (107 HCC hastası ve 127 kontrol), bu varyantlar PCR-RFLP ve multivariate regresyon kullanılarak analiz edildi. Bulgular, XPO5rs34324334 (A) varyantının allelik, çekinik ve dominant modellerde HCC için daha yüksek risk ile ilişkili olduğunu, ayrıca hepatit C sirozu ve yüksek alfa-fetoprotein düzeyleri ile ilişkili olduğunu gösterdi. Benzer şekilde, RANrs14035 (T) varyantının taşıyıcılarında HCC geliştirme olasılığı daha yüksekti. Sonuçlar bu varyantların HCC gelişimi için bağımsız risk faktörleri olduğunu düşündürmektedir (Elsalahaty vd, 2023).

SONUÇ

Son yıllarda yapılan çalışmalar, bu GTPazların yalnızca mekanik düzenleyiciler olmadığını, aynı zamanda epigenetik faktörlerle doğrudan veya dolaylı olarak etkileşime girdiklerini ortaya koymuştur. Bu etkileşimler şu yollarla gerçekleşebilir: Histon modifikasyonları: Ras ve Rho gibi GTPazlar, HDAC, HMT ve demetilaz gibi epigenetik düzenleyicilerin aktivitesini etkileyerek gen ekspresyonunu değiştirir. DNA metilasyonu: Bazı küçük GTPazlar, DNA metiltransferazların regülasyonuna katkıda bulunarak gen susturulmasını veya aktivasyonunu yönlendirir. Kromatin yeniden düzenlenmesi: Ran gibi nükleer GTPazlar, kromatin yapısının organizasyonunda görev alarak nükleer taşıma ve DNA onarım süreçlerini epigenetik düzeyde etkiler. Transkripsiyonel kontrol: Arf ailesi yeleri, transkripsiyon faktörlerinin nükleer lokalizasyonunu ve stabilitesini etkileyerek epigenetik yanıtları şekillendirir.

Bu etkileşimler, özellikle kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve yaşlanma gibi patolojik süreçlerde belirgin hale gelir. Küçük GTPazların epigenetik mekanizmalarla olan bu etkileşimi hem hastalıkların moleküler temellerini anlamada hem de yeni tedavi hedefleri geliştirmede büyük potansiyel taşıır.

KAYNAKLAR

- Aakula, A., Sharma, M., Tabaro, F., Nätkin, R., Kamila, J., Honkanen, H., ... & Westermarck, J. (2023). RAS and PP2A activities converge on epigenetic gene regulation. *Life science alliance*, 6(5).
- Alawieh, D., Cysique-Foinlan, L., Willekens, C., & Renneville, A. (2024). RAS mutations in myeloid malignancies: Revisiting old questions with novel insights and therapeutic perspectives. *Blood Cancer Journal*, 14(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41408-024-01054-2>
- Algothmi¹, K., Kalboneh, H., Alrofaidi¹, A., Alharbi¹, M., Farsi¹, R., Alburae, N., ... & Alhazmi¹, S. (2021). Effect of CpG Sites on Transcription Factor in Promoter of 'RASA3'Gene. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research (eIJPPR)*, 11(1), 120-124.
- Bannoura, S. F., Aboukameel, A., Khan, H. Y., Uddin, M. H., Jang, H., Beal, E. W., Thangasamy, A., Shi, Y., Kim, S., Wagner, K.-U., Beydoun, R., El-Rayes, B. F., Philip, P. A., Mohammad, R. M., Saif, M. W., Al-Hallak, M. N., Pasche, B. C., & Azmi, A. S. (2024a). RCC1 regulation of subcellular protein localization via Ran GTPase drives pancreatic ductal adenocarcinoma growth. *Cancer Letters*, 604, 217275.
- Bao, X., Liu, H., Liu, X., Ruan, K., Zhang, Y., Zhang, Z., Hu, Q., Liu, Y., Akram, S., Zhang, J., Gong, Q., Wang, W., Yuan, X., Li, J., Zhao, L., Dou, Z., Tian, R., Yao, X., Wu, J., & Shi, Y. (2018). Mitosis-specific acetylation tunes Ran effector binding for chromosome segregation. *Journal of Molecular Cell Biology*, 10(1), 18–32.
- Bildik, G., Liang, X., Sutton, M. N., Bast Jr, R. C., & Lu, Z. (2022). DIRAS3: an imprinted tumor suppressor gene that regulates RAS and PI3K-driven cancer growth, motility, autophagy, and tumor dormancy. *Molecular cancer therapeutics*, 21(1), 25-37.
- Chang, Y. C., Li, C. H., Chan, M. H., Fang, C. Y., Zhang, Z. X., Chen, C. L., & Hsiao, M. (2023). Overexpression of synaptic vesicle protein Rab GTPase 3C promotes vesicular exocytosis and drug resistance in colorectal cancer cells. *Molecular Oncology*, 17(3), 422-444.
- Chen, B., Fan, Z., Sun, L., Chen, J., Feng, Y., Fan, X., & Xu, Y. (2020). Epigenetic activation of the small GTPase TCL contributes to colorectal cancer cell migration and invasion. *Oncogenesis*, 9(9), 86.
- Chen, P. W., Billington, N., Maron, B. Y., Sload, J. A., Chinthalapudi, K., & Heissler, S. M. (2020). The BAR domain of the Arf GTPase-activating protein ASAP1 directly binds actin filaments. *Journal of Biological Chemistry*, 295(32), 11303-11315.

- Chen, Q., Yao, Y., Chen, K., Chen, X., Li, B., Li, R., ... & Liu, F. (2022). Aberrant activation of TGF- β 1 induces high bone turnover via Rho GTPases-mediated cytoskeletal remodeling in Camurati-Engelmann disease. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 913979.
- Donta, M. S., Srivastava, Y., & McCreary, P. D. (2022). *Delta-Catenin as a Modulator of Rho GTPases in Neurons. Front Cell Neurosci* 16: 939143.
- Du, T., Hu, X., Hou, Z., Wang, W., You, S., Wang, M., Ji, M., Xue, N., & Chen, X. (2024). Re-expression of epigenetically silenced PTPRR by histone acetylation sensitizes RAS-mutant lung adenocarcinoma to SHP2 inhibition. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 81(1), 64. <https://doi.org/10.1007/s00018-023-05034-w>
- Dworak, N., Makosa, D., Chatterjee, M., Jividen, K., Yang, C.-S., Snow, C., Simke, W. C., Johnson, I. G., Kelley, J. B., & Paschal, B. M. (2019). A nuclear lamina-chromatin-Ran GTPase axis modulates nuclear import and DNA damage signaling. *Aging Cell*, 18(1), e12851.
- Elsalahaty, M. I., Salama, A. F., Diab, T., Ghazy, M., Toraih, E., & Elshazli, R. M. (2023). Unleash multifunctional role of miRNA biogenesis gene variants (XPO5* rs34324334 and RAN* rs14035) with susceptibility to hepatocellular carcinoma. *Journal of Personalized Medicine*, 13(6), 959.
- Fujibayashi, K., & Mima, J. (2021). The small GTPase Arf6 functions as a membrane tether in a chemically-defined reconstitution system. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 628910.
- Gasolina, A., Yoon, H. Y., Jian, X., Luo, R., & Randazzo, P. A. (2022). A lysine-rich cluster in the N-BAR domain of ARF GTPase-activating protein ASAP1 is necessary for binding and bundling actin filaments. *Journal of Biological Chemistry*, 298(3).
- Ge, T., Brickner, D. G., Zehr, K., VanBelzen, D. J., Zhang, W., Caffalette, C., Moeller, G. C., Ungerleider, S., Marcou, N., Jacob, A., Nguyen, V. Q., Chait, B., Rout, M. P., & Brickner, J. H. (2025). Exportin-1 functions as an adaptor for transcription factor-mediated docking of chromatin at the nuclear pore complex. *Molecular Cell*, 85(6), 1101-1116.e8.
- Gopinathan, G., Xu, Q., Luan, X., & Diekwisch, T. G. (2024). CFDP1 regulates the stability of pericentric heterochromatin thereby affecting RAN GTPase activity and mitotic spindle formation. *Plos Biology*, 22(4), e3002574.
- He, B. F., Wu, Y. X., Hu, W. P., Hua, J. L., Han, Y., & Zhang, J. (2023). ROS induced the Rab26 promoter hypermethylation to promote cigarette smoking-induced airway epithelial inflammation of COPD through activation of MAPK signaling. *Free Radical Biology and Medicine*, 195, 359-370.

- H Hong, C. T., Yang, Y. E., Juan, H. F., Chang, C. P., & Wang, Y. C. (2025). GDP-bound Rab37 modulates M2-like tumor-associated macrophage polarization by attenuating STAT1 translocation to downregulate the type I IFN pathway. *British Journal of Cancer*, 1-13.
- Humphries, B. A., Wang, Z., & Yang, C. (2020). MicroRNA regulation of the small rho gtpase regulators—Complexities and opportunities in targeting cancer metastasis. *Cancers*, 12(5), 1092.
- Inaba, H., Miao, Q., & Nakata, T. (2021). Optogenetic control of small GTPases reveals RhoA mediates intracellular calcium signaling. *Journal of Biological Chemistry*, 296.
- Jewell, J. L., Kim, Y. C., Russell, R. C., Yu, F. X., Park, H. W., Plouffe, S. W., ... & Guan, K. L. (2015). Differential regulation of mTORC1 by leucine and glutamine. *Science*, 347(6218), 194-198.
- Jiang, X., Yang, L., Gao, Q., Liu, Y., Feng, X., Ye, S., & Yang, Z. (2022). The role of RAB GTPases and its potential in predicting immunotherapy response and prognosis in colorectal cancer. *Frontiers in genetics*, 13, 828373.
- Jin, Y., Shen, Y., Su, X., Cai, J., Liu, Y., Weintraub, N. L., & Tang, Y. (2020). The small GTPases Rab27b regulates mitochondrial fatty acid oxidative metabolism of cardiac mesenchymal stem cells. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 209.
- Khater, M., Bryant, C. N., & Wu, G. (2021). Gβγ translocation to the Golgi apparatus activates ARF1 to spatiotemporally regulate G protein-coupled receptor signaling to MAPK. *Journal of Biological Chemistry*, 296.
- Koduru, T., Hantman, N., Peters, E. V., Jaworek, M. W., Wang, J., Zhang, S., ... & Royer, C. A. (2024). A molten globule ensemble primes Arf1-GDP for the nucleotide switch. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 121(39), e2413100121.
- Kraus, J., Travis, S. M., King, M. R., & Petry, S. (2023). Augmin is a Ran-regulated spindle assembly factor. *Journal of Biological Chemistry*, 299(6).
- Lasho, T., & Patnaik, M. M. (2020). Juvenile myelomonocytic leukemia – A bona fide RASopathy syndrome. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 33(2), 101171. <https://doi.org/10.1016/j.beha.2020.101171>
- Lin, Q., Qiu, M., Wei, X., xiang, Z., Zhou, Z., Ji, I., Liang, X., Zhou, X., Wen, Q., Liu, Y., & Yu, H. (2023). Genetic variants of SOS2, MAP2K1 and RASGRF2 in the RAS pathway genes predict survival of HBV-related hepatocellular carcinoma patients. *Archives of Toxicology*, 97(6), 1599–1611. <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03469-5>

- Liu, H.-H., Wang, J., Zhang, Y., Fan, Y.-C., & Wang, K. (2022). Prognostic potential of the small GTPase Ran and its methylation in hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*, 21(3), 248–256. <https://doi.org/10.1016/j.hbpd.2022.03.011>
- Liu, Y., Yong, C., Yang, M., Qi, H., Zheng, S., Wang, M., ... & Chen, J. The Upregulation of Growth Differentiation Factor 15 is Controlled Epigenetically by Oncogenic RAN/TCF19 Signaling in Human Hepatocellular Carcinoma. *Available at SSRN 5175048*.
- Luciano, A. K., Korobkina, E. D., Lyons, S. P., Haley, J. A., Fluharty, S. M., Jung, S. M., ... & Guertin, D. A. (2022). Proximity labeling of endogenous RICTOR identifies mTOR complex 2 regulation by ADP ribosylation factor ARF1. *Journal of Biological Chemistry*, 298(10).
- Ly, F., Li, X., Wang, Z., Wang, X., & Liu, J. (2024). Identification and validation of Rab GTPases RAB13 as biomarkers for peritoneal metastasis and immune cell infiltration in colorectal cancer patients. *Frontiers in Immunology*, 15, 1403008.
- Maruta, Y., & Fukuda, M. (2022). Large Rab GTPase Rab44 regulates microtubule-dependent retrograde melanosome transport in melanocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 298(11).
- Meissner, J. M., Akhmetova, K., Szul, T., Viktorova, E. G., Sha, B., Bhatt, J. M., ... & Sztul, E. (2023). The Arf-GEF GBF1 undergoes multi-domain structural shifts to activate Arf at the Golgi. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11, 1233272.
- Muñoz-Félix, J. M., & Martínez-Salgado, C. (2021). Dissecting the involvement of Ras GTPases in kidney fibrosis. *Genes*, 12(6), 800.
- Nagai-Ito, Y., Xu, L., Ito, K., Kajihara, Y., Ito, G., & Tomita, T. (2022). The atypical Rab GTPase associated with Parkinson's disease, Rab29, is localized to membranes. *Journal of Biological Chemistry*, 298(10).
- Nasif, D., Real, S., Roqué, M., & Branham, M. T. (2022). CDC42 as an epigenetic regulator of ID4 in triple-negative breast tumors. *Breast Cancer*, 29(3), 562-573.
- Neumann, A. J., & Prekeris, R. (2023). A Rab-bit hole: Rab40 GTPases as new regulators of the actin cytoskeleton and cell migration. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11, 1268922.
- Ozugergin, I., & Piekny, A. (2021). Complementary functions for the Ran gradient during division. *Small GTPases*, 12(3), 177-187.
- Pavišić, V., Mahmutefendić Lučin, H., Blagojević Zagorac, G., & Lučin, P. (2021). Arf GTPases are required for the establishment of the pre-assembly

- compartment in the early phase of cytomegalovirus infection. *Life*, 11(8), 867.
- Peck, A. B., Nguyen, C. Q., & Ambrus, J. L. (2021). Upregulated chemokine and Rho-GTPase genes define immune cell emigration into salivary glands of Sjögren's syndrome-susceptible C57BL/6. NOD-Aec1Aec2 mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 7176.
- Phillips, C. M., Stamatovic, S. M., Keep, R. F., & Andjelkovic, A. V. (2023). Epigenetics and stroke: role of DNA methylation and effect of aging on blood–brain barrier recovery. *Fluids and Barriers of the CNS*, 20(1), 14.
- Remlein, B., & Paschal, B. M. (2020). The Ran GTPase Gradient Protects the Nucleolus from Aging-Associated Morphological Changes. *bioRxiv*, 2020-07.
- Ren, X., Jiang, K., & Zhang, F. (2020). The multifaceted roles of RCC1 in tumorigenesis. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7, 225.
- Satoh, K., Sakai, S., & Nishizuka, M. (2022). Knockdown of RhoQ, a member of Rho GTPase, accelerates TGF- β -induced EMT in human lung adenocarcinoma. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 32, 101346.
- Seo, J., Seong, D., Lee, S. R., Oh, D. B., & Song, J. (2020). Post-translational regulation of ARF: perspective in cancer. *Biomolecules*, 10(8), 1143.
- Singh, A. K., Joshi, I., Reddy, N. M., Purushotham, S. S., Eswaramoorthy, M., Vasudevan, M., ... & Kundu, T. K. (2025). Epigenetic modulation rescues neurodevelopmental deficits in Syngap1^{+/-} mice. *Aging Cell*, 24(3), e14408.
- Sun, Z., Li, Y., Tan, X., Liu, W., He, X., Pan, D., Li, E., Xu, L., & Long, L. (2023). Friend or Foe: Regulation, Downstream Effectors of RRAD in Cancer. *Biomolecules*, 13(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/biom13030477>
- Tamaddon-Jahromi, S., Murphy, K., Walker, W., & Kanamarlapudi, V. (2022). EFA6R suppresses ovarian cancer cell migration and invasion. *bioRxiv*, 2022-01.
- Tripathi, B. K., Hirsh, N. H., Qian, X., Durkin, M. E., Wang, D., Papageorge, A. G., ... & Lowy, D. R. (2024). The pro-oncogenic noncanonical activity of a RAS•GTP: RanGAP1 complex facilitates nuclear protein export. *Nature Cancer*, 5(12), 1902-1918.
- Tsukuba, T., Yamaguchi, Y., & Kadowaki, T. (2021). Large Rab GTPases: novel membrane trafficking regulators with a calcium sensor and functional domains. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(14), 7691.

- Umbayev, B., Safarova, Y., Yermekova, A., Nessipbekova, A., Syzdykova, A., & Askarova, S. (2023). Role of a small GTPase Cdc42 in aging and age-related diseases. *Biogerontology*, 24(1), 27-46.
- Ungefroren, H., Wellner, U. F., Keck, T., Lehnert, H., & Marquardt, J. U. (2020). The small GTPase RAC1B: A potent negative regulator of- and useful tool to study-TGF β signaling. *Cancers*, 12(11), 3475.
- Vieweg, S., Mulholland, K., Bräuning, B., Kachariya, N., Lai, Y. C., Toth, R., ... & Muqit, M. M. (2020). PINK1-dependent phosphorylation of Serine111 within the SF3 motif of Rab GTPases impairs effector interactions and LRRK2-mediated phosphorylation at Threonine72. *Biochemical Journal*, 477(9), 1651-1668.
- Wang, X., Li, D., Sun, L., Shen, G., Liu, H., Guo, H., ... & Lu, Y. (2020). Regulation of the small GTPase Ran by miR-802 modulates proliferation and metastasis in colorectal cancer cells. *British journal of cancer*, 122(11), 1695-1706.
- Wang, Y., Xie, Y., Qian, L., Ding, R., Pang, R., Chen, P., ... & Zhang, S. (2024). RAB42 overexpression correlates with poor prognosis, immune cell infiltration and chemoresistance. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1445170.
- Waschbüsch, D., Berndsen, K., Lis, P., Knebel, A., Lam, Y. P., Alessi, D. R., & Khan, A. R. (2021). Structural basis for the specificity of PPM1H phosphatase for Rab GTPases. *EMBO reports*, 22(11), e52675.
- Wenli, Y., Wei, W., Yubiao, P., Hua, H., & Hongyan, T. (2025). ARF3 as a novel biomarker and target in acute myeloid leukemia: Insights from pan-cancer analysis. *Genomics*, 117(2), 110984.
- Xiong, E., Popp, O., Salomon, C., Mertins, P., Kocks, C., Rajewsky, K., & Chu, V. T. (2023). A CRISPR/Cas9-mediated screen identifies determinants of early plasma cell differentiation. *Frontiers in Immunology*, 13, 1083119.
- Yang, C. C., Meng, G. X., Dong, Z. R., & Li, T. (2021). Role of Rab GTPases in hepatocellular carcinoma. *Journal of Hepatocellular Carcinoma*, 1389-1397.
- Yang, F., Li, T., Peng, Z., Liu, Y., & Guo, Y. (2020). The amphipathic helices of Arfrp1 and Arl14 are sufficient to determine subcellular localizations. *Journal of Biological Chemistry*, 295(49), 16643-16654.
- Yang, L., Zhang, S., Zheng, L., Kong, F., Pu, P., Li, X., & Jia, L. (2024). Association of ADP-ribosylation factor family genes with prognosis and immune infiltration of breast cancer. *Oncology Letters*, 27(6), 280.
- Zhang, S., Tong, M., Zheng, D., Huang, H., Li, L., Ungermann, C., ... & Zhong, Q. (2023). C9orf72-catalyzed GTP loading of Rab39A enables HOPS-mediated

membrane tethering and fusion in mammalian autophagy. *Nature Communications*, 14(1), 6360.

- Zhang, X., Chen, C., Ling, C., Luo, S., Xiong, Z., Liu, X., ... & Tang, J. (2022). EGFR tyrosine kinase activity and Rab GTPases coordinate EGFR trafficking to regulate macrophage activation in sepsis. *Cell death & disease*, 13(11), 934.
- Zhang, Z., Chen, B., Zhu, Y., Zhang, T., Zhang, X., Yuan, Y., & Xu, Y. (2021). The Jumonji domain-containing histone demethylase homolog 1D/lysine demethylase 7A (JHDM1D/KDM7A) is an epigenetic activator of RHOJ transcription in breast cancer cells. *Frontiers in cell and developmental biology*, 9, 664375.
- Zhu, M., & Wang, X. Q. (2020). Regulation of mTORC1 by small GTPases in response to nutrients. *The Journal of nutrition*, 150(5), 1004-1011.
- Zhu, Y., Yang, X., Yang, Y., Yan, X., Li, C., & Chen, S. (2024). Identification and functional analysis of Ras-related associated with diabetes gene (rrad) in Edwardsiella piscicida-resistant individuals of Japanese flounder (Paralichthys olivaceus). *International Journal of Molecular Sciences*, 25(19), 10532.



BÖLÜM 3

Mikroplastik Stresi Altında Yetiştirilen Fasulye Tohumlarına Ceviz Yeşil Kabuğu Biyokömür Çayı Uygulaması

Esranur Okuroğlu¹ & Tuğba Özbucak²

1. GİRİŞ

Ceviz (*Juglans regia* L.), Dicotyledoneae sınıfı Juglandales takımı, Juglandaceae familyası ve *Juglans* cinsinde yer alan ve eski çağlardan beri insan beslenmesinde kullanılan bir bitkidir (Martínez ve ark., 2010; Bayazit ve ark., 2016). *Juglans* cinsine ait 18 ceviz türünün olduğu bildirilmektedir (Şen, 1986). Bunlardan Ülkemizde de yaygın olarak yetiştirilen tür, Anadolu ya da İran cevizi olarak bilinen *J. regia* türüdür.

Cevizin yeşil kabuğu, klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit, sinapik asit, gallik asit, ellajik asit, protokatekuik asit, şiringik asit, vanilik asit, kateşin, mirisetin ve juglon'un bulunduğu 13 farklı fenolik bileşik içermektedir (Saçlık, 2023). Yapılan bilimsel çalışmalar ile Juglonun farklı bitkiler üzerine allelopatik etkisi olduğu belirtilmiştir (Radix ve ark., 1992; Ercişli ve ark., 2005; Appleton ve ark., 2015). Yeşil ceviz kabuğu sahip olduğu yüksek fenolik içeriği nedeniyle hayvan beslenmesinde kullanılmamaktadır (Westendorf, 2000).

Mikroplastik (MP) kirliliği günümüzde ciddi bir çevresel tehdit olarak değerlendirilmektedir. Plastiğin doğada bozulmaya karşı yüksek dirence sahip olması, çevrede kalıcı birikimlere yol açmaktadır (Eerkes ve ark., 2015). Ayrıca, plastik üretiminin her geçen gün katlanarak arttığı tahmin edilmektedir (Büks ve Kaupenjohann, 2020). Mikroplastikler, genellikle 1 µm ile 5 mm arasında değişen boyutlara sahip plastik kirleticiler olarak tanımlanmakta ve çevresel sistemlerde yaygın olarak bulunmaktadır (Frias ve Nash, 2019). Doğrudan üretilebildikleri gibi daha büyük plastik parçaların zaman içerisinde ayrılması ile de oluşabilmektedirler (Aksakal ve ark., 2021). Önceleri yalnızca deniz organizmaları için bir tehlike olarak görülen MP'ler, kademeli ve kaçınılmaz bir şekilde besin zincirine sızarak insan sağlığını da etkileyen bir hal almıştır (Kutralam-Muniasamy ve ark., 2023). Mikroplastiklerin toprağa karışmasının potansiyel yolları atıksular ile tarımsal sulama yapılması, arıtma çamuru ve kompost uygulamaları, plastik malçlama, çöpler ve atmosferik çöküntüler

¹ Ordu Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ordu, Türkiye, Orcid: 0009-0002-1970-9223

² Ordu Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ordu, Türkiye, Orcid: 0000-0002-4784-3537

şeklinde sıralanabilir (M. Blasing ve ark., 2017). Karasal ekosistemlerde, MP stresine maruz kalan bitkilerde gelişimi ve büyümesinin etkilendiği belirtilmektedir. (Jia ve ark., 2023). Toprakta MP birikiminin çok yüksek bir düzeye ulaştığı bilindiğinden yenilebilir bitkiler tarafından MP'lerin daha yüksek oranda alınması insanlar için ciddi sağlık riskleri oluşturabilmektedir (Makhdoumi ve ark., 2023).

Mikroplastikler, toprak agregasyon kararlılığını azaltarak toprak yapısını önemli ölçüde zayıflatabilmektedir. Mikroplastikler ayrıca toprağın gözenekliliği, hacim yoğunluğu ve su tutma kapasitesi gibi fiziksel özelliklerini de değiştirmektedir. Mikroplastikler, toprak organik maddesine (SOM) bağlanarak ayrıştırıcılar için daha az erişilebilir hale gelebilir ve bu da organik materyalin parçalanmasını yavaşlatır (Hasan ve Tarannum, 2024).

Yapılan çalışmalar, biyokömür uygulamalarının mikroplastik kaynaklı toprak kirliliğini azaltmada etkili olduğunu ortaya koymuştur (Khalid, vd. (2023). Biyokömür uygulaması, toprak mikrobiyal topluluk yapısını değiştirerek mikroplastiklerin olumsuz etkilerini azaltabilmektedir (Wu, ve ark, 2024). Toprağa biyokömür ilavesi, toprak kalitesini artırmakta ve bitki gelişimini teşvik ederek sürdürülebilir tarım sistemlerinin geliştirilmesinde önemli bir araç olarak öne çıkmaktadır (Khan ve ark., 2024).

Biyokömür, organik materyallerin termokimyasal dönüşüm süreçleriyle elde edilen, yüksek karbon içeriğine sahip bir üründür. Endüstriyel ve çevresel alanların yanı sıra, özellikle tarımda sorunlu toprakların iyileştirilmesinde toprak düzenleyici olarak kullanılmaktadır. Artan nüfusla birlikte, sürdürülebilir üretim tekniklerinin tarım başta olmak üzere tüm sektörlerde uygulanması zorunlu hale gelmiştir. Sürdürülebilirlik ilkeleri, mevcut kaynakların etkin kullanımı, çevresel etkilerin azaltılması ve alternatif enerji kaynaklarının değerlendirilmesini kapsamaktadır. Bu bağlamda, tarımsal ve hayvansal atıkların etkili bir şekilde yönetilmesi hem toprak kalitesinin artırılması hem de çevre kirliliğinin önlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır (Alma ve Altıkat, 2021). Biyokömür, biyokütlenin 300 °C ile 900 °C arasındaki sıcaklıklarda katı, gaz ve sıvı fazlara ayrıştırılması sonucu oluşan bir yan üründür. Bu işlemin sonucunda elde edilen katı madde biyokömür olarak adlandırılmaktadır (Cha, 2016). Biyokömür, toprakta karbon içeriğini artırarak tarımsal verimliliği yükseltir. Yüksek yüzey alanı, gözeneklilik ve fonksiyonel yüzey grupları sayesinde çevre dostu bir malzeme olmasının yanı sıra, mikroplastiklerin adsorpsiyonu için de ideal bir adaydır. Yapılan çalışmalar, besin açısından fakir topraklara biyokömür ilavesinin, besin elementlerinin mevcudiyetini ve bitki biyokütlesini artırdığını göstermektedir (Albuquerque ve ark., 2014). Biyokömür teknolojisi, özellikle organik karbon içeriği düşük topraklarda önemli avantajlar sunmaktadır. Ancak, farklı toprak tipleri ve arazi yönetim stratejileri altındaki etkilerinin daha iyi

anlaşılması gerekmektedir. Toprağın fiziksel ve hidrolik özellikleri, ekosistem hizmetlerinin sunumu açısından kritik öneme sahiptir. Bu  zellikler; kök gelişimi, havalanma, sıkışma, su ve besin alımı, su kirliliği, erozyon ile su, ısı ve gaz hareketi gibi birçok süreci doğrudan etkilemektedir. Bu nedenle, biyokömür uygulamalarının söz konusu toprak özellikleri üzerindeki etkilerine dair kapsamlı bilgi, toprak fonksiyonlarının iyileştirilmesi açısından oldukça değerlidir (Blanco, 2017; Blanco-Canqui, 2017).

Öte yandan, son yıllarda organik materyallerden ekstre edilen sıvı ürünlerin tarımsal uygulamalarda kullanımı da artış göstermektedir (Allouzi, ve ark., 2022). Hasat sonrası ortaya çıkan bitkisel atıkların değerlendirilmesi amacıyla geliştirilen teknolojiler, atık hacminin azaltılmasını hedeflemektedir. Bu kapsamda  ne çıkan iki temel yaklaşım; biyokömür üretimi ve sıvı ürün elde etmeye yönelik ekstraksiyon uygulamalarıdır (Aygün, 2023). Ekstraksiyon işlemi, genellikle kompost gibi organik materyallerin belirli sürelerle su ile karıştırılarak, aerobik veya anaerobik koşullarda bekletilmesi ve ardından süzülmesiyle tanımlanmaktadır. Uygulanan karışım süresine göre elde edilen sıvı ürünler farklı şekilde adlandırılır; kısa süreli (yaklaşık 15 dakika) karışımlardan elde edilen sıvı "ekstrakt" olarak, daha uzun süreli ( rneğin 36 saat, 7 gün, 14 gün) karışımlardan elde edilen ürün ise "kompost ayı" olarak adlandırılmaktadır (Aygün, 2023).

Bu çalışmanın amacı farklı bölgelerden temin edilen ceviz dış yeşil kabuğundan elde edilen biyokömür ayının mikropplastik uygulaması yapılmış fasulye tohumunun imlendirilmesi üzerindeki etkisinin incelemek ve karışılaştırmaktır.

2. YÖNTEM

Çalışmada kullanılan materyaller

Yapılan çalışmada, yerel pazardan temin edilen ve yerli üretim olan Ziraat Ata tipi fasulye tohumları kullanılmıştır. Her bir petri kabına beşer adet olmak üzere toplam 18 petri için 90 adet fasulye tohumu ile çalışılmıştır. Biyokömür eldesi için kullanılan cevizin yeşil olan en dış kabukları Amasya ve Ordu illerinden, Ekim ayında hasat edilen cevizlerden temin edilmiştir. Toplanan kabuklar, laboratuvar ortamında gölgede kurutulmuştur. Tamamen kuruyan kabuklar, biyokömür sobasında 400  C sıcaklıkta 2 saat pirolizlenerek biyokömüre d n şt r lm ştir (şekil1).



Şekil 1. Biyokömür eldesinde kullanılan biyokömür sobası

Elde edilen biyokömürlerden 1:10 oranında (biyokömür/saf su) hazırlanan karışım 100 dev/dk hızında mekanik çalkalayıcıda 24 saat boyunca çalkalanmıştır. Süre sonunda karışım süzülerek biyokömür çayı elde edilmiş ve +4 °C'de saklanmıştır (Aygün, 2023).



Şekil 2: Ceviz yeşil kabuğu biyokömürü

Çalışmada mikroplastik (MP) elde etmek amacıyla, 500 ml.lik pet şişelerin mavi kapakları zımparalanarak öğütülerek parçalanmıştır (Şekil 3). Kapak üzerinde yer alan “2” numaralı işaretten yola çıkarak kullanılan plastiğin türü yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE, PE-HD) olarak belirlenmiştir (Yurtsever, 2018).



Şekil 3: Mikroplastik eldesi

Tohum Sterilizasyonu ve Deney Düzenegi

Tohumla patojenlerle bulaşık olma ihtimaline karşı, deney öncesi %0,5'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 5 dakika bekletilmiş, ardından saf suda üç kez 2,5 dakika yıkanarak sterilize edilmiştir (Özbucak ve ark., 2024). Tohumlar, iki kat steril kurutma kâğıdı içeren 9 cm çapındaki petri kaplarına ekilmiştir. Çalışma 3 tekerrürlü olarak yürütülmüş kontrol, Amasya biyoçayı, Ordu biyoçayı, mikroplastik, Mikroplastik + Amasya biyoçayı ve Mikroplastik + Ordu biyoçayı olmak üzere altı deney grubu oluşturulmuştur (Şekil 4). Petri kutuları, 16 saat ıstık ve 8 saat karanlık periyoduna uygun sıcaklık koşullarında bırakılmıştır. Deneylerde, uygulama gruplarına 2 ml. biyoçay, 0,015 gram mikroplastik eklenmiştir. Çimlenme 4. günde başlamış, süreç boyunca tohumların çimlenme oranı ve kökçük uzunlukları düzenli olarak ölçülerek 14 gün boyunca takip edilmiştir.

Ordu ve Amasya biyokömür numuneleri ve mikroplastik örneklerine ait elementel analizler, Ordu Üniversitesi Merkezi Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Ayrıca biyoçaylara ait pH, elektriksel iletkenlik (EC), toplam çözünmüş katı madde (TTS) ve çözünmüş tuz (salt) değerleri de ölçülmüştür.



Şekil 4: Deney Grupları

3. BULGULAR

Çalışmada kullanılan biyokömür çayı ve mikroplastik analiz sonuçları Tablo 1’ de verilmiştir. Bu sonuçlara göre azot yüzdesi bakımından en yüksek değer 3,65 ile Amasya biyoçayı, en düşük değer ise 3,17 ile mikroplastikte tespit edilmiştir. Karbon yüzdesi açısından en yüksek sonuç 74,31 ile mikroplastikte en düşük sonuç ise 30,30 ile Amasya biyoçayında belirlenmiştir. Hidrojen yüzdeleri kıyaslandığında en yüksek sonuç 9,75 ile mikroplastikte en düşük sonuç ise 2,55 ile Amasya biyoçayında bulunmuştur. Hiçbir numunede kükürt elementine rastlanmamıştır.

Tablo 1. Elementel analiz sonuçları

Numune	Azot (N) %	Karbon (C) %	Hidrojen (H) %	Kükürt (S)
Amasya biyokömür	3.65	30.30	2.55	0.00
Ordu biyokömür	3.28	49.49	3.54	0.00
Mikroplastik	3.17	74.31	9.75	0.00

Çok fonksiyonlu bir pH metre ile örneklerin Elektriksel iletkenlik (EC), Toplam çözünmüş katı madde (TTS) çözünmüş tuz ve pH değerleri ölçülmüştür. En yüksek sonuçlar Amasya biyoçayında gözlemlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. pH metre ölçüm sonuçları

Numune	Elektriksel iletkenlik (EC)	Toplam Çözünmüş katı madde (TTS)	Çözünmüş Tuz	pH
Ordu Biyokömür çayı	30.6	15.3	17.9	10.46
Amasya Biyokömür çayı	31.8	15.8	18.7	10.8

Yapılan çalışmada, 14 gün boyunca 6 farklı uygulamanın (Kontrol, Ordu Biyoçay, Amasya Biyoçay, Mikroplastik, Mikroplastik + Ordu Biyoçay, Mikroplastik + Amasya Biyoçay) çimlenme oranları ve kökçük uzunlukları belirlenmiştir. Toplam çimlenen tohum sayısının yüz ile çarpılmasıyla çimlenme yüzde oranları belirlenmiştir. Kökçük uzunluklarının ölçülmesinde ise basit milimetrik cetvel kullanılmıştır. Kökçük uzunluğu 1 cm olanlar çimlenmiş kabul edilmiştir (Souza ve ark. (2014). Çalışmada elde edilen sonuçlara Anova ve Duncan testleri uygulanmıştır. Çimlenme oranları ve kökçük uzunlukları parametreleri için uygulanan Anova ve Duncan test sonuçları Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Çimlenme oranları ve kökçük uzunlukları parametreleri için uygulanan Anova ve Duncan testleri

Çimlenme oranları (%)					Kökçük uzunlukları (mm)	
Gün	Deney grupları	N	Ortalama± Standart sapma	p	Ortama± Standart sapma	p
1	K	3	46.667±11.547 ^b	0.071	0.666±0.577 ^a	0.447
	AB	3	40.000±0.000 ^b		1.000±0.000 ^a	
	OB	3	53.333±11.547 ^{ab}		1.083±0.144 ^a	
	MP	3	46.667±11.547 ^b		1.083±0.144 ^a	
	OMP	3	73.333±11.547 ^a		1.040±0.069 ^a	
	AMP	3	60.000±20.000 ^{ab}		0.667±0.577 ^a	
2	K	3	66.667±30.550 ^a	0.390	1.500±0.500 ^a	0.438
	AB	3	46.667±11.547 ^a		1.000±0.000 ^a	
	OB	3	53.333±11.547 ^a		1.330±0.330 ^a	
	MP	3	46.667±11.547 ^a		1.470±11.547 ^a	
	OMP	3	73.333±11.547 ^a		1.330±0.312 ^{ab}	
	AMP	3	60.000±20.000 ^a		1.250±0.250 ^a	
3	K	3	66.667±30.550 ^a	0.496	1.617±0.126 ^{ab}	0.023*
	AB	3	46.667±11.547 ^a		1.083±0.144 ^b	
	OB	3	53.333±11.547 ^a		1.360±0.425 ^b	
	MP	3	53.333±11.547 ^a		1.943±0.417 ^b	
	OMP	3	73.333±11.547 ^a		1.566±0.215 ^{ab}	
	AMP	3	60.000±20.000 ^a		1.166±0.144 ^a	
4	K	3	66.667±30.550 ^a	0.496	1.966±0.577 ^a	0.055
	AB	3	46.667±11.547 ^a		1.206±0.261 ^c	
	OB	3	53.333±11.547 ^a		1.443±0.417 ^{abc}	
	MP	3	53.333±11.547 ^a		1.886±0.537 ^{ab}	

	OMP	3	73.333±11.547 ^a		1.580±0.069 ^{abc}	
	AMP	3	60.000±20.000 ^a		1.303±0.388 ^{bc}	
5	K	3	80.000±20.000 ^a	0.202	1.920±0.381 ^{ab}	0.048*
	AB	3	46.666±11.547 ^b		1.276±0.046 ^b	
	OB	3	60.000±20.000 ^{ab}		1.560±0.381 ^b	
	MP	3	53.333±11.547 ^{ab}		2.386±11.547 ^a	
	OMP	3	73.333±11.547 ^{ab}		1.633±0.125 ^b	
	AMP	3	60.000±20.000 ^{ab}		1.386±0.317 ^b	
6	K	3	80.000±20.000 ^a	0.202	1.753±0.310 ^{ab}	0.068
	AB	3	46.666±11.547 ^b		1.570±0.386 ^b	
	OB	3	60.000±20.000 ^{ab}		1.483±0.119 ^b	
	MP	3	53.333±11.547 ^{ab}		2.327±0.577 ^a	
	OMP	3	73.333±11.547 ^{ab}		1.823±0.204 ^{ab}	
	AMP	3	60.000±20.000 ^{ab}		1.386±0.318 ^b	
7	K	3	80.000±20.000 ^a	0.202	1.943±0.326 ^{ab}	0.018*
	AB	3	46.667±11.547 ^b		1.436±0.077 ^b	
	OB	3	60.000±20.000 ^{ab}		1.543±0.179 ^b	
	MP	3	53.333±11.547 ^{ab}		2.360±0.625 ^a	
	OMP	3	73.333±11.547 ^{ab}		1.717±0.042 ^b	
	AMP	3	60.000±20.000 ^{ab}		1.883±0.485 ^b	
8	K	3	80.000±20.000 ^a	0.202	1.883±0.485 ^{ab}	0.040*
	AB	3	46.667±11.547 ^b		1.437±0.077 ^b	
	OB	3	60.000±20.000 ^{ab}		1.567±0.058 ^b	
	MP	3	53.333±11.547 ^{ab}		2.413±0.709 ^a	
	OMP	3	73.333±11.547 ^{ab}		1.703±0.127 ^b	
	AMP	3	60.000±20.000 ^{ab}		1.457±0.051 ^b	
9	K	3	80.000±20.000 ^a	0.202	1.997±0.445 ^{ab}	0.040*
	AB	3	60.000±20.000 ^b		1.537±0.164 ^b	
	OB	3	53.333±11.547 ^{ab}		1.450±0.180 ^b	
	MP	3	73.333±11.547 ^{ab}		2.413±0.709 ^a	
	OMP	3	73.333±11.547 ^{ab}		1.737±0.071 ^{ab}	
	AMP	3	60.000±20.000 ^{ab}		1.427±0.172 ^b	
10	K	3	80.000±20.000 ^a	0.202	2.460±0.297 ^a	0.002*
	AB	3	46.667±11.547 ^b		1.693±0.049 ^b	
	OB	3	60.000±20.000 ^{ab}		1.660±0.160 ^b	
	MP	3	53.333±11.547 ^{ab}		2.857±0.725 ^a	
	OMP	3	73.333±11.547 ^{ab}		1.760±0.105 ^b	
	AMP	3	60.000±20.000 ^{ab}		1.583±0.175 ^b	

(K: Kontrol; AB: Amasya Biyoçay; OB: Ordu Biyoçay; MP: Mikroplastik; OMP: Mikroplastik + Ordu Biyoçay; AMP: Mikroplastik + Amasya Biyoçay)

Tablo 3'te verilen sonuçlar her deney grubu için oluşturulan üç tekerrürün ortalaması şeklindedir. Sonuçlara bakıldığında çimlenme oranı açısından en yüksek değerler (%80) kontrol grubunda görülmektedir. Ordu mikroplastik + Ordu Biyoçay uygulaması çimlenme oranı (%73) izlemektedir. En düşük çimlenme oranı değeri ise %60 ile Amasya biyoçay uygulamasında tespit edilmiştir.

Tohumların çimlenmesi dördüncü günden itibaren başladığı için kökçük uzunluklarında 10 günlük ölçüm yapılmıştır. Kökçük uzunluklarının günler ilerledikçe arttığı gözlemlenmiştir (Tablo 3). Mikroplastik uygulanan petrilere özellikle 5. günden itibaren diğer uygulamalara kıyasla daha uzun kökçük

gelişimi görülmüştür. En yüksek değer 2.857 cm ile 10. gün ölçümlerinde tespit edilmiştir. Deneme gruplarından özellikle Amasya biyoçay ve mikroplastik+Amasya biyoçay uygulaması kökçük uzunluk sonuçları mikroplastik uygulaması sonuçlarına göre daha düşük kalmıştır.

İstatistiki olarak, farklı uygulamaların yapıldığı deneme grupları arasında çimlenme oranı açısından farklılık gözlemlenmektedir. Ayrıca 5 ile 10. gün arasındaki bütün günlerde gruplar arasında sabit bir farklılık görülmektedir. Ancak bu farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Kökçük uzunluklarında ise gruplar arasında 3,5,7,8,9 ve 10 günlerde farklılık görülmektedir. Bu farklılıklar istatistiki olarak $p < 0.05$ e göre önemli bulunmuştur.

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Ekosistemin primer üreticileri olan bitkiler bulundukları ortamın ekolojik faktörlerine maruz kalırlar. Bu faktörler bitkilerin anatomik, morfolojik ve fizyolojik özelliklerini etkilemektedir (Kılınç ve Kutbay, 2008). Ülkemizin sahip olduğu farklı topografik özellikler kısa mesafelerde dahi farklı iklimsel özelliklerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Dölerslan ve Gül, 2015). Yapılan çalışmada mikroplastik stresi altında çimlendirilen fasulye tohumlarına Amasya ve Ordu illerinden hasat döneminde temin edilen ceviz dış yeşil kabuğu biyokömür çaylarının farklı kombinasyonlarının etkisi ya da toleransı incelenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla yapılan çalışmada kullanılan materyallerin azot (%N), karbon (%C), hidrojen (%H) ve kükürt (%S) elementel analiz sonuçlarına bakıldığında azot bakımından en yüksek değer Amasya biyoçayında, en düşük değerin ise mikroplastikte olduğu tespit edilmiştir. Karbon ve hidrojen en yüksek değerler mikroplastikte, en düşük değerler ise Amasya biyoçayındadır. Bitkilerin azot konsantrasyon değerleri bitkinin bulunduğu ortamın ekolojik faktörlerine hatta aynı bitkinin farklı kısımlarına göre de değişiklik göstermektedir (Özbucak ve ark., 2024). Bununla beraber, örneklerin alındığı lokalitelere yakın bölgelerdeki tarımsal faaliyetler de topraktaki dolayısıyla bitkideki azot miktarını artırmış olabilir. Karbon ve hidrojen değerlerinin mikroplastik örneklerinde yüksek çıkması normal bir sonuçtur. Plastik endüstrisinde PE (Polietilen) olarak kullanılan molekülün kimyasal formülü C_2H_4 olup yapısında iki C ve dört H bulunmaktadır.

Yapılan çalışmada çimlenme oranları açısından istatistiki bir fark gözlenmemiştir. Bununla beraber, en yüksek çimlenme oranının %80 ile kontrol grubunda olduğu, onu %73 çimlenme oranı ile mikroplastik + Ordu biyoçay uygulamasının takip ettiği tespit edilmiştir. En düşük çimlenme oranı ise Amasya biyoçay uygulamasındadır. Kontrol grubu değerleri ile mikroplastik + Ordu biyoçay uygulaması değerleri birbirine yakındır. Kontrol grubunda çimlenme oranının yüksek çıkmasının nedeni, mikroplastik ve biyoçay uygulamalarının

tohum gözeneklerini tıkayıp yeterli su ve mineral alınımasını sağlayamaması olabilir. Biyoçay uygulamaları çimlenme oranları açısından karşılaştırıldığında Ordu biyoçayının Amasya biyoçayına göre çimlenme üzerinde daha etkili olduğu söylenebilir. Yukarıdaki elementel analiz sonuçları ile düşünüldüğünde, Ordu biyoçayının Amasya biyoçayına göre karbon (C) ve hidrojen (H) bakımından daha zengin olması olabilir. Mikroplastik deneme grupları çimlenme oranlarına bakıldığında, mikroplastik ve biyoçayın birlikte uygulandığı grupların çimlenme oranları sadece mikroplastik uygulanan gruplara göre daha yüksektir.

Kökçük uzunlukları açısından çimlenmeye paralel olarak gruplar arasında istatistiki olarak önemlilik bulunmuştur. Özellikle en yüksek kökçük uzunluğu değerleri mikroplastik uygulaması yapılan gruplarda belirlenmiştir (2.327-2.857 mm). En düşük değerler ise Amasya mikroplastik ve Amasya biyoçay uygulamalarında tespit edilmiştir. Yapılan çalışmanın sonucu bu çalışma ile paralellik göstermektedir. Çimlenme kökçük uzunluğunda en iyi sonucu mikroplastik uygulaması grubu vermiştir. Literatürde mikroplastiklere karşı biyokömür uygulamasının olumlu sonuçlar verdiği belirtilmektedir (Taş, 2022). Oysa bizim çalışmamızda biyokömürden elde edilen biyoçay uygulamasının fasulye çimlenmesi üzerindeki etkisi bu sonuçları desteklememektedir. Çalışmada kullanılan her iki biyokömür biyoçayının pH değerleri alkali özellik gösterse de Amasya biyoçayının değeri (10.80) daha alkalidir. Fasulye tohumunun çimlenmesi için literatürde belirtilen pH değeri 6.5-8 arasındadır (Yakupoglu, 2020). O nedenle yapılan çalışmada özellikle Amasya biyoçayının yüksek pH değeri fasulye çimlenmesi üzerinde olumsuz etki yapmış olabilir.

Bununla birlikte yapmış olduğumuz fasulye çimlendirme çalışması, yeşil ceviz kabuğu biyokömür biyoçayı uygulamasının mikroplastik stresi üzerindeki etkisini inceleyen ilk çalışmadır. Bu nedenle bu çalışmanın bundan sonra farklı doz uygulamaları ve farklı tohumların deneneceği diğer çalışmalara öncülük edecek kanaatindeyiz.

KAYNAKÇA

- Abdul-Aziz, A. L. (2021). Biyokömürün toprağın biyolojik özellikleri üzerine etkilerinin incelenmesi.
- Aksakal, D., Çalış, M., Yiğitkurt, S., & Durmaz, Y. (2021). Işınlı inci istiridyesi *Pinctada imbricata radiata*'da mikroplastik varlığı. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 6(4), 742–748.
- Alburquerque, J. A., et al. (2014). Effects of biochars produced from different feedstocks on soil properties and sunflower growth. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 177, 16–25.
- Allouzi, M. M. A., Allouzi, S. M. A., Keng, Z. X., Supramaniam, C. V., Singh, A., & Chong, S. (2022). Liquid biofertilizers as a sustainable solution for agriculture. *Heliyon*, 8(12).).
- Alma, M. H., & Altıkat, A. (2021). Biochar and soil physical properties.
- Appleton, B. L., Berrier, R., Harris, R., Alleman, D., Swanson, L. 2015, *The Walnut Tree: Allelopathic Effects and Tolerant Plants*. USA: Produced by Communications and Marketing, College of Agriculture and Life Sciences, Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Aygün, S. (2023). Fındık zurufu ve biyokömürü ile ekstraksiyonlarının toprak kalitesi ve ekmeklik buğday gelişimine etkileri.
- Bayazit, S., Tefek, H., & Çalışkan, O. (2016). Türkiye’de ceviz (*Juglans regia* L.) araştırmaları. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(1), 169-179.
- Blanco-Canqui, H. (2017). Biochar and soil physical properties. *Soil Science Society of American Journal*, 81, 687–711
- Blasing, M., & Amelung, W. (2018). Plastics in soil: Analytical methods and possible sources. *Science of the Total Environment*, 612, 422–435.
- Büks, F., & Kaupenjohann, M. (2020). Global concentrations of microplastic in soils: A review. *Soil Discussions*, 1–26.
- Cha, J. S., Park, S. H., Jung, S. C., Ryu, C., Jeon, J. K., Shin, M. C., & Park, Y. K. (2016). Production and utilization of biochar: A review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 40, 1-15.
- De Souza, A., García, D., Sueiro, L., & Gilart, F. (2014). Improvement of the seed germination, growth and yield of onion plants by extremely low frequency non-uniform magnetic fields. *Scientia Horticulturae*, 176, 63-69.
- Dölarslan, M., & Gül, E. (2015). Yapraklı-Büyükya (Çankırı)’nın vasküler bitkiler florası. *Ormancılık Dergisi*, 11(2), 74-91
- hemistry, 40, 1–15.

- Eerkes-Medrano, D., Thompson, R. C., & Aldridge, D. C. (2015). Microplastics in freshwater systems: a review of the emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritisation of research needs. *Water research*, 75, 63-82.
- Ercişli, S., Eşitken, A., Turkkal, C., Orhan, E. 2005, The allelopathic effects of juglone and walnut leaf extracts on yield, growth, chemical and PNE compositions of strawberry cv. Fern. *Plant soil environ*, 51, 283-287
- Frias, J. P. G. L., & Nash, R. (2019). Microplastics: Finding a consensus on the definition. *Marine Pollution Bulletin*, 138, 145–147.
- Guo, M., Zhao, F., Tian, L., Ni, K., Lu, Y., & Borah, P. (2022). Effects of polystyrene microplastics on the seed germination of herbaceous ornamental plants. *Science of the Total Environment*, 809, 151100.
- Hasan, M. M., & Tarannum, M. N. (2024). Adverse impacts of microplastics on soil physicochemical properties and crop health in agricultural systems. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 100528.
- Jahanban-Esfahlan, A., Ostadrahimi, A., Tabibiazar, M., & Amarowicz, R. (2019). A comprehensive review on the chemical constituents and functional uses of walnut (*Juglans* spp.) husk. *International journal of molecular sciences*, 20(16), 3920.
- Jia, L., Liu, L., Zhang, Y., Fu, W., Liu, X., Wang, Q., Tanveer, M., & Huang, L. (2023). Microplastic stress in plants: Effects on plant growth and their remediations. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1–21.
- Khalid, A. R., Shah, T., Asad, M., Ali, A., Samee, E., Adnan, F., ... & Haider, G. (2023). Biochar alleviated the toxic effects of PVC microplastic in a soil-plant system by upregulating soil enzyme activities and microbial abundance. *Environmental Pollution*, 332, 121810.)
- Khan, S., Irshad, S., Mehmood, K., Hasnain, Z., Nawaz, M., Rais, A., ... & Ibrar, D. (2024). Biochar production and characteristics, its impacts on soil health, crop production, and yield enhancement: A review. *Plants*, 13(2), 166.).
- Kılınç, M. & Kutbay, HG. (2008). Bitki ekolojisi. Palme Yayıncılık.
- Kutralam-Muniasamy, G., Shruti, V. C., Pérez-Guevara, F., & Roy, P. D. (2023). Microplastic diagnostics in humans: “The 3Ps” —Progress, problems, and prospects. *Science of the Total Environment*, 856, 159164.
- Makhdoumi, P., Pirsaeheb, M., Amin, A. A., Kianpour, S., & Hossini, H. (2023). Microplastic pollution in table salt and sugar: Occurrence, qualification and quantification and risk assessment. *Journal of Food Composition and Analysis*, 119, 105261.

- Özbucak, T., Çınar, Y.Y., Susuzlu, Z. I. (2024). Fındık Zurufu ve Kabuğunun Farklı Habitatlardan Alınan *Amaranthus retroflexus* L. Bitkisi Üzerindeki Allelopatik Etkisi. Moleküler Biyoloji ve Genetik Kitabı. Yaz Yayınları. E_ ISBN 978-625-6104-48-8. Palansooriya KN et al. Biochar alters chemical and microbial properties of microplastic-contaminated soil, Environ Res. 2022.
- Radix, P., Seiglemurandi, F., Benoitguyod, J. L., Krivobok, S. 1992, Toxicity of Walnut Husk Washing Waters. Water Research, 26, 1503-1506.
- Saçlık, S. (2023). Ceviz (*Juglans regia*) Üretiminde Yeşil Ceviz ve Sert Ceviz Kabuğu yan Ürünlerinin Biyokütle Miktarlarının Belirlenmesi ve Tahmini (Master's thesis, Kırşehir Ahi Evran University (Turkey)).
- Seleiman, M.F., Almutairi, K.F., Alotaibi, M., Shami, A., Alhammad, B.A., Battaglia, M.L. (2021). Nano gübreleme, yeni ortaya çıkan bir gübreleme tekniği olarak: Modern tarımın kullanımından nasıl faydalanabileceği? Bitkiler, 10, 2.
- Şen, S.M. 1986. Ceviz Yetiştiriciliği. Eser Matbaası, Samsun, 229s.
- Taş, İ. (2022). Nanoplastik stresi altında yetiştirilen buğday (*Triticum aestivum*) köklerinde biochar uygulamasının su durumu, antioksidan enzim/izozim sistemi ve lipid peroksidasyon üzerine etkileri.
- Westendorf, M. L. 2000, Food waste to animal feed, John Wiley & Sons, ISBN: 0813825407.
- Wu, C., Ma, Y., Shan, Y., Song, X., Wang, D., Ren, X., ... & Ma, Y. (2024). Exploring the potential of biochar for the remediation of microbial communities and element cycling in microplastic-contaminated soil. Chemosphere, 362, 142698.).
- Yakupoğlu, G. (2020). Fasulye Tohumlarına Melatonin Uygulamalarının Orta Alkalın Toprak Koşullarında Fide Gelişimi Üzerine Etkileri. Bahçe, 49(1), 1-9.
- Yurtsever, M. (2018). Küresel plastik kirliliği: Nano-mikroplastik tehlikesi ve sürdürülebilirlik. Çevre Bilim ve Teknoloji Dergisi, 1, 171–197.



BÖLÜM 4

***Sydowia polyspora* ile Mücadelede Fungal Endofitlerin İn Vitro Kullanımı: Potansiyel Biyokontrol Ajanlarının Belirlenmesi**

Beyza Yılmaz¹ & Deniz Çakar² & Seçil Akıllı Şimşek³

1. GİRİŞ

Bitki hastalıklarının yönetimi ve sürdürülebilir tarım uygulamalarında önemli bir potansiyele sahip olan endofitler, bitki dokuları içinde belirgin bir hastalık belirtisine yol açmadan yaşayan mikroorganizmalardır ve konak bitkinin sağlığı ile çevresel streslere karşı direncinde kritik roller oynayabilir (Tejesvi vd., 2007; White ve Torres, 2010; Hamilton vd., 2012). Endofit terimi ilk kez 1866 yılında De Bary tarafından “bitkilerin içinde yaşayan” anlamında kullanılmıştır (Stone vd., 2000). Endofitler; funguslar, bakteriler ve aktinomisetler gibi farklı mikroorganizma gruplarını kapsar (Chowdhary ve Kaushik, 2015). Endofit funguslar, genellikle konukçu bitkide herhangi bir belirti oluşturmadan, asemptomatik olarak bitki dokuları içerisinde mutualist bir yaşam sürerler. Bu mikroorganizmalar, bitki dokularında kolonize olma yeteneğine sahip olup bitki büyümesini teşvik ederler (Nair ve Padmavathy, 2014; Hassan, 2017). Ayrıca, endofitik funguslar konukçu bitkiyi tüm yaşam döngüsü boyunca koruyabilen biyokontrol ajanları olarak işlev görebilir, ekstrem çevre koşullarına uyum sağlayabilir ve bitkinin bu koşullara dayanıklılığını artırabilir (Wu vd., 2018). Bununla birlikte, abiyotik ve biyotik faktörlerin etkisiyle endofit fungusların patojen hale gelebildiği de bildirilmiştir (Stanosz vd., 2007; Talgø vd., 2010; Ridout ve Newcombe, 2018).

Önemli iğne yapraklı türlerden biri olan göknarlarda (*Abies* spp.) son yıllarda artan kurumalar, orman sağlığı ve ekonomik değer açısından ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalar, bu kurumlara neden olan başlıca etmenlerden birinin endofit bir fungus olan *Sydowia polyspora* (Bref. & Tavel) E. Müll. olduğunu göstermektedir (Talgø vd., 2010; Çakar vd., 2023). Göknarlarda görülen ibre kurumaları, “Current Season Needle Necrosis” (CSNN)

¹ Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çankırı, Türkiye.
ORCID: 0000-0002-2698-0487

² Dr., Çankırı Karatekin Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, Çankırı, ORCID: 0000-0002-6269-404X

³ Prof. Dr., Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çankırı, Türkiye, ORCID: 0000-0002-5055-1391

olarak adlandırılmakta olup, ibre uçlarından başlayarak tüm iğnenin kahverengileşmesi ile karakterizedir (Butin ve Pehl, 1993). Normalde endofitik formda yaşayan *S. polyspora*, belirli biyotik ve abiyotik stres koşullarında patojen hale gelerek ibre nekrozuna yol açabilmektedir (Chastagner vd., 1990; Chastagner ve Benson, 2000).

Türkiye’de, özellikle Kazdağı Göknaarı [*Abies nordmanniana* subsp. *equi-trojani*] ormanlarında son yıllarda CSNN vakalarının arttığı rapor edilmiştir (Çakar vd., 2022; 2023). Bu durum, hastalık etmenine karşı etkili ve çevre dostu mücadele yöntemlerinin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Endofitik funguslar, patojenlerle rekabet etme, antibiyotik bileşikler üretme ve konukçu savunma mekanizmalarını aktive etme gibi özellikleri sayesinde potansiyel biyokontrol ajanları olarak değerlendirilmektedir (Rodriguez vd., 2009).

Bu bağlamda, çalışmanın amacı; *S. polyspora*’nın neden olduğu CSNN hastalığına karşı kullanılabilecek endofitik fungusların belirlenmesi ve bu izolatların *in vitro* koşullarda biyokontrol potansiyellerinin değerlendirilmesidir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Çalışma sahası olarak Ankara Orman Bölge Müdürlüğü’ne bağlı Ilgaz göknar ormanları seçilmiştir. 2023 yılı Ekim ayında, endofit fungusların izolasyonu amacıyla, sağlıklı görünen göknar alanlarında yaklaşık 150 m aralıklarla 20 ağaçtan, semptom göstermeyen dal örnekleri alınmıştır. Örnekler, ayrı poşetler içerisinde etiketlenerek Çankırı Karatekin Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı’na getirilmiş ve +4 °C’de saklanmıştır.

2.2. Endofit Fungus İzolasyonu

Sağlıklı sürgünlerden alınan ibre parçaları ve nekrozlu ibreler, yüzey sterilizasyonu amacıyla sırasıyla %1’lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 3 dakika, %70’lik etanolde 1 dakika bekletilmiş, ardından üç kez steril saf su ile yıkanmıştır. Steril kurutma kâğıdı üzerinde kurutulan ibre parçaları (2–3 mm), Patates Dekstroza Agar (PDA, Difco, ABD; 40 g/L) içeren steril Petri kaplarına ekilmiştir. Kültürler 7 gün boyunca 23 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen fungus kolonileri, PDA ortamına aktarılmış ve saf kültürler elde edilmiştir. Petriler, 23 °C’de 10 gün süreyle inkübe edilmiştir.

2.3. Mikroorganizmaların Teşhisi

Saflaştırılan fungus izolatları mikroskop altında morfolojik olarak incelenmiştir. Teşhis için PDA üzerinde yeniden kültüre alınan izolatlar, ilgili teşhis anahtarları ve literatür kaynakları kullanılarak tür düzeyinde

tanımlanmıştır (Barnett, 1965; Barnett ve Hunter, 1972; Ellis, 1976; Domsch, 1980; Sutton ve Waterston, 1970; Sutton, 1980).

2.4. DNA İzolasyonu

Gökmar ibrelerinden izole edilen funguslar PDA besi ortamında 7 gün süreyle inkübe edilmiş, gelişen hifler steril bisturi ile toplanarak 2 mL'lik steril Eppendorf tüplerine alınmıştır. DNA izolasyonu, CTAB yöntemi ile DArT protokolü (<http://www.diversityarrays.com>) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

2.5. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

ITS bölgesi için universal primerler ITS1/ITS4 (White vd., 1990), Beta-tubulin 2 (*tub2*) bölgesi için ise Bt2a/Bt2b (Glass ve Donaldson, 1995) primerleri kullanılmıştır. PCR amplifikasyonları, 25 µL'lik reaksiyon karışımında gerçekleştirilmiştir. 40 ng kalıp DNA, 1× FirePol PCR Buffer BD (0,8 M Tris-HCl, 0,2 M (NH₄), her bir primerden 1 µL (10 µM), 200 µM dNTP, 1 ünite FIREPol Taq DNA polimeraz. Reaksiyonlar, Thermo Scientific™ Arktik™ Thermal Cycler cihazında, Çakar vd. (2023)'te belirtilen PCR koşullarına göre yürütülmüştür.

PCR ürünleri, ilgili firmaya sekans analizi için gönderilmiş, elde edilen ham veriler MEGAX programı (Kumar vd., 2018) ile düzenlenmiştir. Tür tespiti, GenBank veri tabanındaki NCBI BLAST aracı (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) kullanılarak yapılmıştır.

2.6. *Sydowia polyspora*'ya Karşı Endofit Fungusların *in vitro* Etkinlik Testi

Endofit fungusların *S. polyspora*'ya karşı etkinliği, çift kültür (dual culture) yöntemi ile belirlenmiştir. Steril PDA içeren 9 cm çapındaki Petri kaplarına, 1 hafta süreyle inkübe edilen *S. polyspora* izolatının aktif misel ucundan 0,5 cm²'lik agar parçası (cork borer ile) ekilmiştir. İki gün sonra, aynı Petri kabına endofit funguslardan biri, patojenle aralarında 4 cm mesafe olacak şekilde ekilmiştir.

Tüm izolasyonlar 4 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Kontrol grubunda ise *S. polyspora* ile steril PDA agar parçaları karşılıklı ekilmiştir. Petriler 20 ± 1 °C'de karanlıkta inkübe edilmiş (Blumenstein vd., 2021) ve her iki günde bir gözlemler yapılmıştır. Çalışmada toplam 7 adet *S. polyspora* izolatı test edilmiştir. Koloni gelişimi, Liu vd. (2023)'in formülü ile hesaplanmıştır:

$$\text{İnhibisyon Yüzdesi (\%)} = C1 - C2 \times 100$$

C1

C1: Patojen fungusun, kontrol petrisinde koloni ölçümü (mm)

C2: Patojen fungusun, çiftli ekim petrisinde koloni ölçümü (mm)

2.7. İstatistiksel Analizler

Endofit fungusların oluşturduğu inhibisyon farklılıklarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi amacıyla, elde edilen inhibisyon yüzdeleri IBM SPSS Statistics 22 paket programında (IBM Corp. Released 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.) analiz edilmiştir. Gruplar arası farklar Kruskal-Wallis testi ile, ikili karşılaştırmalar ise Mann-Whitney U testi ile belirlenmiştir.

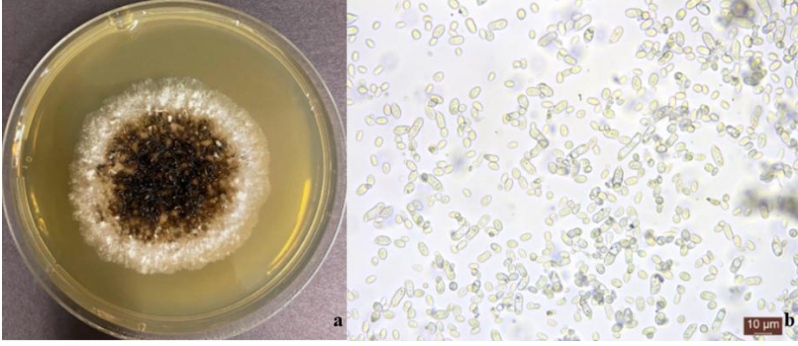
3. BULGULAR

3.1. Elde Edilen Endofit Funguslar

Sağlıklı ibrelerin yanı sıra alınan dal örneklerinde tespit edilen nekrozlu ibrelerden de izolasyon yapılmıştır. Sağlıklı ve nekrozlu iki yüz ibreden, sağlıklı olan parçalardan bir ibrede, nekrozlu ibre parçasında ise yedi ibrededen *S. polyspora* izole edilmiştir (Şekil 1 a, Şekil 2 a, b). Toplamda 200 ibrede %4 oranda etmen fungus izole edilmiştir. Sağlıklı ibrelerden gelişen diğer funguslar ise; dört adet *Penicillium* spp. (%2) (Şekil 1 b), ve bir adet *Talaromyces rugulosus* (%0,5), üç adet *Cladosporium* sp. (%1,5) (Şekil 1 c), bir adet *Aureobasidium pullulans* (%0,5) (Şekil 1 d), yedi nekrozlu ibre parçasından ise *S. polyspora* izolatu elde edilmiştir. Steril fungus gelişimi de görülmüştür.



Şekil 1 Fungusların morfolojik gelişimleri; a) *Sydowia polyspora*, b) *Talaromyces rugulosus*, c) *Cladosporium* sp. d) *Aureobasidium pullulans*



Şekil 2 *Abies nordmanniana* subsp. *equi-trojani* ibrelerinden izole edilen *Sydowia polyspora*'nın PDA besi ortamında morfolojik görüntüsü ve konidiumları (a, b)

3.2. Fungusların Moleküler Tanılanması

Sydowia polyspora (Nsp_04, Nsp_05, Nsp_09, Nsp_11, Nsp_22, Nsp_23 ve Ssp_12), *A. pullulans* (Eau_09) *Penicillium* spp. (Epnc_07, Epnc_12, Epnc_14 ve Epnc_16), ve *T. rugulosus* (Eta1_01) türlerine ait morfolojik tanılanmış ve NCBI veri tabanında kıyaslanarak moleküler düzeyde de tanılanmıştır. Bu çalışmada elde edilen izolatların GenBank erişim numaraları ve benzerlik oranları Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1 Elde edilen izolatların Gen Bankası erişim numaraları

İzolat Adı	Tür	Gen Bankası Erişim Numarası		NCBI Karşılaştırmasına Dayalı Benzerlik Oranı
		ITS	<i>tub2</i>	ITS ve <i>tub2</i> (%)
Nsp_04	<i>S. polyspora</i>	PV489092	-	%99,81- MN184626
Nsp_05	<i>S. polyspora</i>	PV489094	-	%99,81- LN714608
Nsp_09	<i>S. polyspora</i>	PV489089	-	%99,81-MN184626
Nsp_11	<i>S. polyspora</i>	PV489091	-	%99,81- LN714608
Nsp_22	<i>S. polyspora</i>	PV489090	-	%99,81-MK883681
Nsp_23	<i>S. polyspora</i>	PV489095	-	%99,81-OP961982
Ssp_12	<i>S. polyspora</i>	PV489096	-	%99,81- MK883681
Eau_09	<i>A. pullulans</i>	PV489189	PV540170	%99,82- KT722607(ITS) %99,73- MT671935(<i>tub</i>)
Eta1_01	<i>T. rugulosus</i>	PV489309	PV540167	%100,00-MH858378(ITS) %100,00-PP35224(<i>tub</i>)
Epnc_07	<i>Penicillium</i> sp2	PV489307	-	%99,25-KT264466
Epnc_12	<i>Penicillium</i> sp. 1	PV489170	PV540168	%99,63-KX869945(ITS) %99,77-MH549404(<i>tub</i>)
Epnc_14	<i>Penicillium</i> sp. 1	PV489308	-	%99,81-KX869945
Epnc_16	<i>Penicillium</i> sp. 1	PV489169	PV540169	%99,45- KX869945(ITS) %99,77-MH549404(<i>tub</i>)

3.3. Endofit Fungusların *in vitro* Çalışmalarının Sonuçları

Sydowia polyspora üzerinde, en yüksek inhibisyon yüzdesi gösteren endofit fungus *Penicillium* sp. 1 (İzolat ismi: Epnc_14 ve Epnc_12) olmuştur. En düşük inhibisyonu ise *A. pullulans* (Eau_09) ve *T. rugulosus* (Etal_01) göstermiştir (Tablo 2, Şekil 3).

Tablo 2 Endofit fungusların oluşturduğu ortalama inhibisyon yüzdeleri (%)

Patojen Fungus	Endofit fungusların ortalama inhibisyon yüzdeleri (%)					
	<i>A. pullulans</i> (Eau_09) ¹	<i>T. rugulosus</i> (Etal_01)	<i>Penicillium</i> sp. 2 (Epnc_07)	<i>Penicillium</i> sp. 1 (Epnc_12)	<i>Penicillium</i> sp. 1 (Epnc_14)	<i>Penicillium</i> sp. 1 (Epnc_16)
<i>S. polyspora</i> (Nsp_04)	44,99	40,41	47,64	58,52	58,23	44,99
<i>S. polyspora</i> (Nsp_05)	43,53	41,12	48,06	52,05	62,05	56,88
<i>S. polyspora</i> (Nsp_09)	43,81	43,66	45,58	58,82	49,70	50,58
<i>S. polyspora</i> (Nsp_11)	59,99	47,64	45,58	61,17	48,52	57,34
<i>S. polyspora</i> (Nsp_22)	40,90	47,68	52,50	62,50	60,90	62,50
<i>S. polyspora</i> (Nsp_23)	46,17	47,64	48,82	48,81	58,52	48,23
<i>S. polyspora</i> (Ssp_12)	29,22	36,14	44,61	48,08	54,99	43,07



Şekil 3 *Sydowia polyspora*'ya karşı endofit fungusların onuncu günde göstermiş olduğu inhibisyon

4. TARTIŞMA

Sydowia polyspora'nın hem semptomlu hem de semptomsuz ibrelerden izole edilmiş olması, bu organizmanın endofitik bir yaşam formuna sahip olduğunu göstermektedir ve bu durum ilgili çalışmalarda da doğrulanmıştır (Talgø vd., 2010; Çakar vd., 2022; 2023). Ayrıca, kırmızı-kahverengi renk değişikliği gösteren ibrelerden *S. polyspora*'nın izole edilmesi, bu türün CSNN hastalığının başlıca etmeni olabileceğini düşündürmektedir (Talgø vd., 2010; Silva vd., 2020; Çakar vd., 2022). Türkiye'de daha önce yapılan çalışmalarda iki farklı bölgede hastalık tespit edilmiş (Çakar vd., 2023; Beram ve Demiröz, 2024) bu çalışma ile de başka bir bölge de tespit edilmesi hastalığın yaygınlığını göstermektedir.

Dual kültür tekniğiyle gerçekleştirilen *in vitro* etkinlik denemeleri sonucunda, endofitik funguslardan iki farklı *Penicillium* türünün *S. polyspora* üzerinde yüksek inhibisyon yüzdesi oluşturduğu belirlenmiştir. *Penicillium* türlerinin, hem biyotik streslere karşı bitki savunma mekanizmalarını güçlendirdiği (Waqas vd., 2015) hem de patojenlere karşı konukçu bitkiyi koruduğu bilinmektedir (Nicoletti ve Trincone, 2016). Bu çalışma kapsamında elde edilen *in vitro* bulgular da söz konusu türlerin patojenlere karşı etkili olduğunu desteklemektedir.

Aureobasidium pullulans'ın yalnızca bir izolatu kullanılmış ve bu izolat da *S. polyspora* üzerinde inhibisyon etkisi göstermiştir. Bu fungusun çeşitli bitki patojenlerine karşı antagonistik etki gösterdiği daha önceki çalışmalarda da bildirilmiştir (Schena vd., 1999; Schena vd., 2003). Ancak çalışmada yalnızca sağlıklı ibrelerden izole edilen tek bir *A. pullulans* izolatının kullanılması, sonuçların genellenebilirliğini sınırlamaktadır. Bu nedenle daha güvenilir sonuçlar elde edebilmek için farklı örneklerden daha fazla izolat kullanılarak ileri düzey değerlendirmeler yapılması önerilmektedir.

Endofitik potansiyeli değerlendirilen bir diğer tür *T. rugulosus* olmuştur. Bu türün de diğer endofitik türlerde olduğu gibi *S. polyspora* üzerinde inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. *Talaromyces* cinsinin yapısal olarak çeşitli ikincil metabolitler üretebildiği bilinmektedir (Lei vd., 2022). Nitekim Li vd. (2025), *T. purpureogenus*'un pamuk hastalıklarına karşı biyolojik mücadelede potansiyel bir ajan olduğunu bildirmiştir. Bu bağlamda, çalışmada izole edilen *T. rugulosus*'un da etmen fungus üzerinde gösterdiği inhibisyon, bu türün biyokontrol potansiyeli açısından umut verici olduğunu göstermektedir. Ancak, yalnızca tek bir izolat ile çalışılmış olması, bu bulguların genellenmesini engellemektedir. Bu nedenle, daha fazla izolatla yapılacak çalışmaların gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Sağlıklı ibrelerden izole edilen *Cladosporium* sp. bu çalışmada antagonistik etki değerlendirmesine dahil edilmemiştir. Önceki çalışmalarda *Cladosporium* türlerinin beyaz ladin (*Picea glauca* (Moench) Voss) ağaçlarında yaygın olarak

endofitik biçimde bulunduğu bildirilmiştir (Ullah vd., 2025). Nitekim bu cinsin endofitik florada en sık rastlanan türlerden biri olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, *Cladosporium* türlerinin bazı bitkilerde patojenik etki gösterebildiği de literatürde yer almaktadır (Thomma vd., 2005).

Eo ve Eom (2022) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *A. nephrolepis*, *P. pumila*, *T. cuspidata* var. *nana* ve *T. koraiensis* gibi Alpin koniferlerden toplam 108 endofitik fungus izole edilmiştir. Bu çalışmada endofitik olarak izole edilen funguslardan biri de *S. polyspora* olmuştur. Bu çalışmanın sonucunda izole edilen tek ortak tür *S. polyspora* olmuştur. Çalışmaların sonuçlarından yola çıkılarak *S. polyspora*'nın konifer türlerinde yaygın bir endofit olduğunu desteklemektedir.

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, çalışmada kullanılan, dört türün *S. polyspora*'nın üzerinde antagonistik etkisi, kontrol petripleri ile karşılaştırıldığında arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p \leq 0.05$).

Mikroorganizmalar, bitki patojenlerine karşı bitkileri korumak için günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır (Kloepper vd., 2004). Bu çalışmada 'da *S. polyspora*'ya karşı dört farklı endofit fungusun inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen endofit sayısı ve tür çeşitliliği az olmuştur. *A. nordmanniana* subsp. *equi-trojani* ibrelerinin örnekleme sayısı artırılarak, endofit çeşitliliği hakkında daha detaylı çalışmalar yapılması önerilmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma "*Abies equi-trojani*'de ibre yanıklığına neden olan *Sydowia polyspora*'ya karşı, biyokontrol ajanı olarak fungal endofitlerin tespiti" adlı tez çalışmasından derlenmiştir. Bu çalışma, Çankırı Karatekin Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından FF081123L16 nolu proje olarak desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Çankırı Karatekin Üniversitesi BAP birimine, çalışma esnasında materyal temininde ve arazi çalışmalarında yardımcı olan Ankara Orman Bölge Müdürlüğü'ne ve istatistik analizlerde yardımcı olan Doç. Dr. Haydar KOÇ'a teşekkür ederiz.

KAYNAKÇA

- Barnett, H. L. (1965). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Library of Congress Catalog*, USA.
- Barnett, H. L. and Hunter, B. B. (1972). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Burgess Publishing Company. Minnesota.
- Beram, R. C. and Demiröz, F. (2024). *Sydowia polyspora* associated with current season needle necrosis (CSNN) on *Pinus brutia* Ten. in Türkiye. *Forest Pathology*, 54(1), e12849.
- Blumenstein, K., Bußkamp, J., Langer, G. J., Schlößer, R., Parra Rojas, N. M. & Terhonen, E. (2021). *Sphaeropsis sapinea* and associated endophytes in scots pine: interactions and effect on the host under variable water content. *Frontiers in Forests and Global Change*, 4, 655769.
- Butin, H. and Pehl, L. (1993). “*Kabatina abietis* sp. nov. associated with browning of fir needles”, *Mycology Research*, 97, 1340e1342.
- Chastagner, G. A. and Benson, D. M. (2000). The Christmas tree: Traditions, production, and diseases. *Plant Health Progress*, 1(1), 15.
- Chastagner, G. A., Staley, J. M. & Riley, K. L. (1990). Current season needle necrosis: A needle disorder of unknown etiology on noble and grand fir Christmas trees in the Pacific Northwest. In *Recent Research on Foliage Diseases, Conference Proceedings*; Merrill, W., Ostry, ME, Eds (pp. 38-42).
- Chowdhary, K. and Kaushik, N. (2015). Fungal endophyte diversity and bioactivity in the Indian medicinal plant *Ocimum sanctum* Linn. *Plos one*, 10(11), e0141444.
- Çakar, D., Şimşek, S. A., Çömez, A. & Maden, S. (2022). First report of *Sydowia polyspora* causing needle necrosis on Trojan fir in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 104(4), 1589-1590.
- Çakar, D., Şimşek, S. A., Çömez, A. & Maden, S. (2023). Causal agents of current season needle necrosis on Trojan Fir (*Abies nordmanniana* subsp. *equi-trojani*) growing in the Aladağ mountain range in Bolu Province. *Australasian Plant Pathology*, 52(4), 317-326.
- Domsch, K. H., Gams, W. & Anderson, T. H. (1980). *Compendium of Soil Fungi*. Academic Press, London.
- Ellis, M. B. (1976). *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England.
- Eo, J. K. and Eom, A. H. (2022). Community of Endophytic Fungi from Alpine Conifers on Mt. Seorak, *Mycobiology*, 50(5), 317-325.

- Glass, N. L. and Donaldson, G. C. (1995). Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 1323-1330.
- Hamilton, C. E., Gundel, P. E., Helander, M., Saikkonen, K. (2012). Endophytic mediation of reactive oxygen species and antioxidant activity in plants: a review. *Fungal Diversity*, 54, 1-10.
- Hassan, S. E. (2017). Plant growth-promoting activities for bacterial and fungal endophytes isolated from medicinal plant of *Teucrium polium* L. *Journal of Advanced Research*, 8, 687-695.
- IBM Corp. 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. IBM Corp.
- Kloepper, J. W., Ryu, C. M. & Zhang, S. (2004). Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*, 94(11), 1259-1266.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analyses across computing platforms, *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549.
- Lei, L. R., Gong, L. Q., Jin, M. Y., Wang, R., Liu, R., Gao, J. & Deng, Y. (2022). Research advances in the structures and biological activities of secondary metabolites from *Talaromyces*. *Frontiers in Microbiology*, 13, 984801.
- Li, P., Wei, F., Feng, H., Zhao, L., Zhang, Y., Zhou, J. & Zhu, H. (2025). *Talaromyces purpureogenus* CEF642N as a Promising Biocontrol Agent for Cotton Disease Control. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 73(5), 2760-2772.
- Liu, R., Chen, M., Gao, J., Luo, M., & Wang, G. (2023). Identification of antagonistic fungi and their antifungal activities against aconite root rot pathogens. *Plant Signaling & Behavior*, 18(1), 2211852.
- Nair, D. N. and Padmavathy, S. J. T. S. W. J. (2014). Impact of endophytic microorganisms on plants, environment and humans. *The Scientific World Journal*, 2014(1), 250693.
- Nicoletti, R. and Trincone, A. (2016). Bioactive compounds produced by strains of *Penicillium* and *Talaromyces* of marine origin. *Marine drugs*, 14(2), 37.
- Ridout, M. and Newcombe, G. (2018). *Sydowia polyspora* is both a foliar endophyte and a preemergent seed pathogen in *Pinus ponderosa*. *Plant Disease*, 102, 640-644.
- Rodriguez, R. J., White, J. F., Arnold, A. E., Redman, R. S., White, J. J. F., Arnold, A. E., Redman, R. S. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist*, 182(2), 314-330.

- Schena, L., Ippolito, A., Zahavi, T., Cohen, L., Nigro, F. & Droby, S. (1999). Genetic diversity and biocontrol activity of *Aureobasidium pullulans* isolates against postharvest rots. *Postharvest Biology and Technology*, 17(3), 189-199.
- Schena, L., Nigro, F., Pentimone, I., Ligorio, A. & Ippolito, A. (2003). Control of postharvest rots of sweet cherries and table grapes with endophytic isolates of *Aureobasidium pullulans*. *Postharvest Biology and Technology*, 30(3), 209-220.
- Silva, A. C., Henriques, J., Diogo, E., Ramos, A. P. & Bragança, H. (2020). First report of *Sydowia polyspora* causing disease on *Pinus pinea* shoots, *Forest Pathology*, 50(1), e12570.
- Stanosz, G. R., Smith, D. R. & Leisso, R. (2007). *Diplodia* shoot blight and asymptomatic persistence of *Diplodia pinea* on or in stems of jack pine nursery seedlings. *Forest Pathology*, 37(3), 145-154.
- Stone, J. K., Bacon, C. W. & White, J. F. (2000). An overview of endophytic microbes: endophytism defined. *Microbial Endophytes* 3, 29-33.
- Sutton, B. C. (1980). *The Coelomycetes. Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata*. CMI, Kew.
- Sutton, B. C. and Waterston, J. M. (1970). *Sydowia polyspora*. [Descriptions of Fungi and Bacteria]. *Descriptions of Fungi and Bacteria*, (23), Sheet-228.
- Talgø, V. (2009). Diseases and disorders on fir (*Abies* spp.) grown as Christmas trees, boughs, and landscape plants in Norway; from seed to site. Dissertation, Norwegian University of Life Sciences.
- Tejesvi, M. V., Kini, K. R., Prakash, H. S., Subbiah, V., Shetty, H. S., (2007). Genetic diversity and antifungal activity of species of *Pestalotiopsis* isolated as endophytes from medicinal plants. *Fungal Diversity*, 24, 37-54.
- Talgø, V., Chastagner, G., Thomsen, I. M., Cech, T., Riley, K., Lange, K. & Stensvand, A. (2010). *Sydowia polyspora* associated with current season needle necrosis (CSNN) on true fir (*Abies* spp.). *Fungal Biology*, 114(7), 545-554.
- Thomma, B. P., Van Esse, H. P., Crous, P. W. & De Wit, P. J. (2005). *Cladosporium fulvum* (syn. *Passalora fulva*), a highly specialized plant pathogen as a model for functional studies on plant pathogenic Mycosphaerellaceae. *Molecular Plant Pathology*, 6(4), 379-393.
- Ullah, A., Shah, A., Chen, S. H., Shah, A., Rodriguez-Ramos, J. C., Zaman, R. & Erbilgin, N. (2025). Alliance between conifer trees and endophytic fungi against insect defoliators. *Plant, Cell & Environment*. <https://doi.org/10.1111/pce.15503>.

- Waqas, M., Khan, A. L., Hamayun, M., Shahzad, R., Kang, S. M., Kim, J. G. & Lee, I. J. (2015). Endophytic fungi promote plant growth and mitigate the adverse effects of stem rot: an example of *Penicillium citrinum* and *Aspergillus terreus*. *Journal of Plant Interactions*, 10(1), 280-287.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T. & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: A Guide to Methods and Applications*, 183, 315-322.
- White, J. F., Torres, M. S. (2010). Is plant endophyte-mediated defensive mutualism the result of oxidative stress protection? *Physiol Plantarum*, 138, 440-446.
- Wu, Y. Y., Zhang, T. Y., Zhang, M. Y., Cheng, J. & Zhang, Y. X. (2018). An endophytic Fungi of *Ginkgo biloba* L. produces antimicrobial metabolites as potential inhibitors of FtsZ of *Staphylococcus aureus*. *Fitoterapia*, 128, 265-271.



BÖLÜM 5

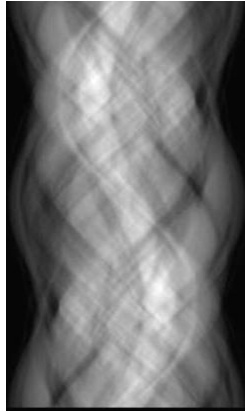
Bilgisayarlı Tomografinin Matematiği

Muhammed Hasdemir¹

1. Giriş

20. yüzyılın en çığır açan yeniliklerinden biri olan Bilgisayarlı Tomografi (BT), X-ışını teknolojisini ve karmaşık bilgisayar algoritmalarını birleştirerek vücudun veya bir nesnenin iç yapısının ayrıntılı kesitsel görüntülerini oluşturan, devrim niteliğinde bir görüntüleme tekniğidir. Klinik tıpta, kanser teşhisi travma değerlendirilmesi, tedavi stratejilerini belirleyen ve günlük klinik uygulamada hayati karar alma süreçlerinden, damar hastalıklarının analizinden cerrahi planlamaya kadar geniş bir yelpazede vazgeçilmez bir araç haline gelmiştir (Buzug, 2008). Endüstriyel alanda ise tahribatsız muayene (non-destructive testing), malzeme bilimi ve metroloji gibi uygulamalarda kritik bir rol oynamaktadır. BT'nin bu gücü, fiziksel ölçüm sürecini yöneten ve bu ölçümlerden anlamlı bir görüntü çıkaran sağlam bir matematiksel çerçeveye dayanır. Bu bölümün amacı, bu matematiksel çerçevenin temel taşlarını ve modern uygulamalarını incelemektir.

Bir BT tarayıcısı, bir X-ışını kaynağı ve karşısındaki bir dedektör dizisinden oluşur. Nesne etrafında dönen bu sistem, farklı açılardan nesneden geçen X-ışınlarının zayıflama miktarını ölçer. Belirli bir açıdaki tek boyutlu ölçüm setine projeksiyon denir. Tüm açılardan elde edilen projeksiyonların bir araya getirilmesiyle oluşturulan iki boyutlu veri haritası ise sinogram olarak adlandırılır (Şekil 1).

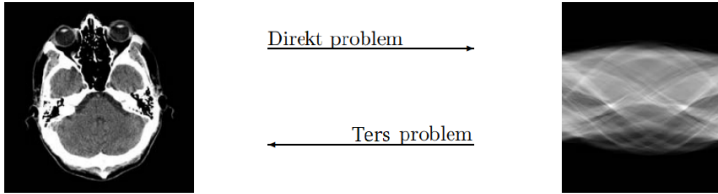


Şekil 1. Sinogram görüntüsü

¹ Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, ORCID: 0000-0001-5901-3699

Matematiksel algoritmalar kullanarak sinogram verisinden kesitsel görüntüyü oluşturma işlemine yeniden oluşturma (reconstruction) adı verilir (Kak & Slaney, 2001). Bir X-ışını demeti, dokulardan geçerken Beer yasasına göre zayıflar ve bu zayıflama, dokunun absorpsiyon katsayısı ile doğrudan ilişkilidir. Matematiksel açıdan bakıldığında, bu süreç bir integral dönüşüm olarak ifade edilir; nesnenin yoğunluk fonksiyonu doğrular boyunca toplanarak ölçülür. Bu ölçümler, sinogram adı verilen veri setlerini oluşturur ve yeniden yapılandırma algoritmaları yardımıyla görüntüye dönüştürülür. Klinik uygulamalarda, bu katsayılar doğrudan kullanılmaz. Bunun yerine **Hounsfield Birimleri (HU)** adı verilen normalize edilmiş değerler kullanılır. Örneğin, suyun HU değeri 0, havanın değeri -1000, kemiğin değeri ise yaklaşık +1000 civarındadır. Yumuşak dokular arasındaki farklar çoğunlukla bu aralıkta çok küçük yüzdelere ifade edilir. Dolayısıyla klinik açıdan anlamlı bir görüntü elde etmek için yeniden yapılandırma sürecinin yüksek doğrulukla gerçekleştirilmesi gerekir (Epstein, 2007; Feeman, 2010).

Tıbbi tomografide direkt problem şöyle ifade edilebilir. İç organlarının yapısı bilinen bir hastadan ne tür bir tomografik görüntü elde edileceğini belirlemek bir direkt problemdir. İlgili ters problem ise farklı açılardan alınan X-ışını projeksiyonları kullanılarak hastanın iç organının üç boyutlu görüntüsünün elde edilmesidir (Şekil 2).



Şekil 2. Direkt problem ve Ters Problem

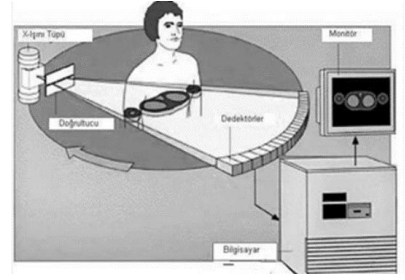
Bu bağlamda BT’de yeniden oluşturma, ölçüm verilerinden (sinogram) nedeni (zayıflatma haritası) geri kazanmayı amaçlayan klasik bir **ters problemdir**. Hadamard’a göre bir problemin **iyi konulmuş** sayılabilmesi için üç koşul gerekir:

- (H1) **Varlık** – en az bir çözümün bulunması,
- (H2) **Teklik** – çözümün tek olması,
- (H3) **Kararlılık** – çözümün verilere sürekli bağlı olması.

Pratikte ölçümler sonlu ve gürültülü olduğundan BT’nin ters problemi çoğu zaman özellikle **kararlılık** açısından zayıftır; bu nedenle problem **iyi konulmamış (ill-posed)** haldedir ve **düzenleme** teknikleri (ör. Tikhonov regülerizasyon, Toplam varyasyon) ile uygun sayısal algoritmalar zorunlu olur (Mueller and Siltanen, 2012).

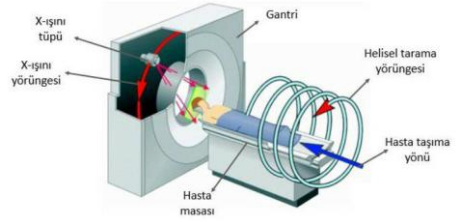
Modern tarayıcılarda, X-ışınları bir noktadan yayılarak bir çizgi veya alan dedektörüne ulaşır; bu geometriler sırasıyla yelpaze-ışın (fan-beam) ve koni-ışın (cone-beam) olarak bilinir.

Hızlı tarama için hasta masası hareket ederken kaynağın sürekli dönmesiyle elde edilen sarmal veri yörüngesi ise helikal tarama olarak tanımlanır.



Şekil 4. Helikal tarama

BT'nin teorik temelleri, 1917'de Johann Radon'un bir fonksiyonun tüm çizgi integrallerinden kendisinin nasıl geri kazanılabileceğini gösteren çalışmasına dayanır (Radon, 1917). Ancak bu matematiksel aracın tıbbi görüntülemeye uygulanması, Allan Cormack ve Godfrey Hounsfield'in birbirinden bağımsız çalışmaları sayesinde 1970'lerde mümkün olmuştur. Bu çığır açan buluşları onlara 1979 Nobel Fizyoloji veya Tıp Ödülü'nü kazandırmıştır (Hounsfield, 1973). Problem, matematiksel olarak, bilinmeyen bir 2B veya 3B zayıflama katsayısı dağılımını (görüntü) temsil eden $f(x,y)$ fonksiyonunu, farklı doğrultulardaki çizgi integralleri (projeksiyonlar) olan $p(\theta,s)$ verilerinden yola çıkarak belirleme problemi olarak formüle edilir. Bu, bir ters problemin (inverse problem) klasik bir örneğidir (Natterer, 2001).



Şekil 3. Bilgisayarlı Tomografi

2. Geometri ve İleri (Forward) Model

Yeniden oluşturma algoritmalarını anlamak için öncelikle verinin nasıl elde edildiğini tanımlayan ileri modeli kurmak gerekir. Bilgisayarlı tomografi (BT) ölçümleri, bir X-ışını kaynağı ile dedektör elemanı arasında uzanan her ışın yolunda dokunun zayıflatma katsayısı $\mu(x,y)$ nedeniyle oluşan şiddet kaybının kaydedilmesine dayanır. Tek-enerjili ve dar demet varsayımı altında Beer–Lambert yasası geçerlidir:

$$I = I^0 e^{-\int_l \mu(r) ds}, p := -\ln\left(\frac{I}{I^0}\right) = \int_l \mu(r) ds. \quad (1)$$

Burada p ölçtüğümüz çizgi integralidir; ℓ , o ışının uzayda izlediği yol (doğru) ve r , yol üzerindeki konumu gösterir. Kaynak konumu/dedektör dizilimi ve dönme hareketi, ölçümlerin (θ, s) ile indekslendiği sinogramı oluşturur.

Bu model, sürekli ve ayrık olmak üzere iki farklı düzeyde incelenebilir.

2.1. Sürekli Model: Radon Dönüşümü

Paralel ışın geometrisinde, 2B bir $f(x, y)$ fonksiyonu (görüntü) verildiğinde, bu fonksiyonun belirli bir l doğrusu boyunca alınan çizgi integrali, BT'nin temelini oluşturan matematiksel bir işlemdir. Bu doğru, orijine olan dik uzaklığı s ve normal vektörünün açısı θ ile parametrize edilebilir. Bu parametrisasyon altında, $f(x, y)$ 'nin tüm çizgi integrallerinin oluşturduğu $Rf(\theta, s)$ fonksiyonuna Radon dönüşümü denir (Deans, 2007). Matematiksel olarak şu şekilde ifade edilir:

$$Rf(\theta, s) = \int \int f(x, y) \delta(x \cos\theta + y \sin\theta - s) dx dy \quad (2)$$

Burada $\delta(\cdot)$ Dirac delta fonksiyonudur ve integralin yalnızca

$$x \cos\theta + y \sin\theta = s \quad (3)$$

doğrusu üzerinde alınmasını sağlar. Bu denklem, (θ, s) uzayında sinogramı oluşturur.

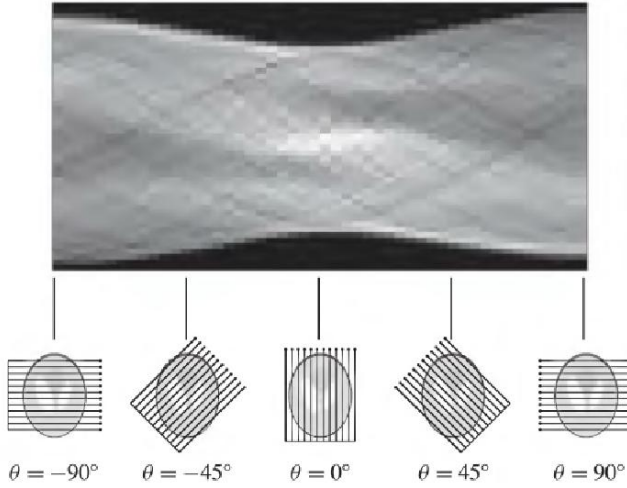
2.2. Fourier-Dilim Teoremi

Radon dönüşümünün en güçlü matematiksel özelliklerinden biri, Fourier uzayındaki karşılığıdır. Fourier-dilim teoremi (veya Merkez Dilim Teoremi), bir fonksiyonun bir açıdaki projeksiyonunun 1B Fourier dönüşümünün, o fonksiyonun 2B Fourier dönüşümünün aynı açıdaki bir dilimine (slice) eşit olduğunu belirtir (Bracewell, 1956).

Formal olarak, $Rf(\theta, s)$ 'nin s 'ye göre 1B Fourier dönüşümünü $\hat{R}f(\theta, \omega)$ ile ve $f(x, y)$ 'nin 2B Fourier dönüşümünü $\hat{f}(u, v)$ ile gösterelim. Teorem şu şekilde ifade edilir:

$$\hat{R}f(\theta, \omega) = \hat{f}(\omega \cos\theta, \omega \sin\theta) \quad (4)$$

Bu teorem, tüm açılardan projeksiyonlar olarak f 'nin Fourier uzayındaki tüm radyal çizgilerini doldurabileceğimizi ve ardından 2B ters Fourier dönüşümü ile $f(x, y)$ 'yi yeniden oluşturabileceğimizi ima eder (Şekil 5). Bu, Filtrelenmiş Geri Yansıtma'nın (FBP) teorik temelidir (Kak & Slaney, 2001).



Şekil 5. Farklı açılardan X ışını verilerek elde edilen Sinogram görüntüsü (Mueller and Siltanen, 2012)

2.3. Ayırık Model ve Sistem Matrisi

Pratikte, hem projeksiyon açıları θ hem de dedektör konumları s ayırık değerler alır. Görüntü de sürekli bir fonksiyon yerine piksellerden (veya 3B'de voksellerden) oluşan bir matris olarak temsil edilir. Bu durum, problemi bir lineer denklem sistemine dönüştürür. Görüntüyü N piksellik tek bir sütun vektörü x olarak, M dedektör ölçümünü de bir vektör b olarak düşünelim. Bu iki vektör arasındaki ilişki, sistem matrisi A aracılığıyla kurulur (Herman, 2009):

$$Ax = b \quad (5)$$

A matrisinin A_{ij} elemanı, j -inci pikselin i -inci ışın tarafından ne kadar "görüldüğünü" veya bu ışına ne kadar katkıda bulunduğunu temsil eden bir ağırlıktır. Uygulamada projektör/geri-projektör eşleştirmesi (matched projector/backprojector) önemlidir; ışın izleme için Siddon/Joseph-tipinde integrasyonlar kullanılır.

3. Klasik Yeniden Oluşturma: Filtrelenmiş Geri Yansıtma (FBP)

Filtrelenmiş Geri Yansıtma (FBP), hızı ve basitliği nedeniyle on yıllardır BT'de standart yeniden oluşturma yöntemi olmuştur. FBP, Fourier-dilim teoreminin analitik bir sonucudur. Yöntemin temeli, Ramachandran ve Lakshminarayanan'ın öncü çalışmalarına dayanır (Ramachandran & Lakshminarayanan, 1971).

3.1. Ters Radon Dönüşümü ve Rampa Filtresi

FBP, kutupsal koordinatlardaki Fourier verilerini Kartezyen'e dönüştürmek için $|\omega|$ (frekansın mutlak değeri) ile çarpma işlemi uygular. Bu filtreye rampa filtresi veya Ram-Lak filtresi denir. Bu filtre, yüksek frekansları (kenarlar, detaylar) güçlendirerek basit geri projeksiyonun bulanıklığını telafi eder (Kak & Slaney, 2001). Pratikte, ideal rampa filtresi gürültüyü aşırı yükselttiği için, yüksek frekansları yumuşatan Hamming ve Hann gibi pencere fonksiyonları ile modifiye edilir. Bununla birlikte, daha düşük tüp akımı/geriliminde kaçınılmaz olarak artan kuantum gürültüsü ve obezite gibi hasta faktörleri FBP ile belirgin görüntü bozulmalarına yol açabilir. Bu nedenle FBP'nin hız üstünlüğüne karşın, düşük doz senaryolarında gürültü ve artefakt kontrolü için istatistiksel/iteratif yaklaşımlara ihtiyaç doğmuştur (Willemink ve Noël, 2019).

3.2. FBP Algoritması

2B paralel ışın geometrisi için FBP algoritması, projeksiyonların 1B Fourier dönüşümünü almayı, rampa filtresiyle çarpmayı, ters Fourier dönüşümü uygulamayı ve son olarak filtrelenmiş projeksiyonları görüntü düzlemine geri yansıtmayı içerir (Natterer, 2001).

3.3. Fan-Beam ve Cone-Beam FBP

Fan-beam geometrisinde projeksiyonlar, kaynak odak noktasından yelpaze şeklinde yayılır ve doğrusal bir dedektör dizisi tarafından ölçülür. Fan-beam FBP genellikle iki yolla uygulanır: (i) paralel eşdeğere dönüştürme (rebinning) ve ardından paralel FBP; (ii) doğrudan fan-beam FBP.

Cone-beam (konik) geometrisinde, 2B dedektör paneliyle 3B veri toplanır. En yaygın ve hızlı yöntem Feldkamp–Davis–Kress (FDK) algoritmasıdır (Feldkamp vd., 1984). FDK, her 2B projeksiyonu uygun bir ağırlıklandırma ve 1B filtreleme ile işler, ardından 3B uzayda ağırlıklı geri projeksiyon uygular.

4. İteratif ve Optimizasyon Tabanlı Yöntemler

FBP'nin düşük dozlu veya seyrek açılı taramalardaki sınırlılıkları, iteratif yöntemlerin geliştirilmesine yol açmıştır.

4.1. Cebirsel Yöntemler: ART ve SIRT

ART (Algebraic Reconstruction Technique) her iterasyonda tek ölçüm doğrultusuna dayalı güncelleme yaparken; SIRT tüm ölçümleri eşzamanlı kullanarak gürültüye daha kararlı bir evrim sağlar (Gordon vd., 1970; Gilbert, 1972). OS-SART gibi blok/alt-küme stratejileri yakınsama hızını artırır.

4.2. Optimizasyon Tabanlı Yaklaşımlar

Modern iteratif yöntemler, problemi genellikle bir optimizasyon problemi olarak formüle eder:

$$\min_{\{x \geq 0\}} \frac{1}{2} \|Ax - b\|_2^2 + \lambda R(x) \quad (6)$$

Burada ilk terim veri tutarlılığını, $R(x)$ terimi ise görüntü hakkındaki ön bilgiyi (düzenleyici) temsil eder. λ ise bu iki terim arasındaki dengeyi kontrol eder. En popüler düzenleyicilerden biri, gürültüyü bastırırken keskin kenarları koruma yeteneğiyle bilinen Toplam Varyasyon (TV) düzenlemesidir (Rudin vd., 1992). Bu yaklaşım, özellikle seyrek veriden yeniden oluşturma (sparse-view) senaryolarında çok başarılıdır (Sidky & Pan, 2008).

Tablo 1: Yeniden Oluşturma Yöntemlerinin Avantajları ve Dezavantajları

Yöntem	Avantajlar	Dezavantajlar
FBP	- Çok hızlı ve hesaplama yükü düşük. - Matematiksel olarak anlaşılır ve uygulaması kolay. - Tam ve gürültüsüz veride iyi sonuçlar verir.	- Gürültüye duyarlı, düşük dozda performansı zayıf. - Seyrek veya eksik veride ciddi artefaktlar üretir. - Metal gibi artefaktlara karşı dayanıksız.
İteratif (ART/SIRT)	- FBP'den daha gürültüye dayanıklı. - Eksik veri durumlarını daha iyi idare eder. - Esnek modelleme imkanı.	- FBP'den çok daha yavaş. - Yakınsama için çok sayıda iterasyon gerektirir. - Parametre seçimi gerektirir.
TV Düzenlemesi	- Kenarları korurken gürültüyü güçlü bir şekilde bastırır. - Sparse-view BT için çok etkilidir. - Metal artefaktlarını azaltmada başarılıdır.	- Hesaplama maliyeti en yüksek olanlardan biridir. - Düzenleme parametresinin seçimi kritiktir. - Görüntüde "parçalı-sabit" bir görünüm yaratabilir.

5. Örnekleme, Çözünürlük ve Gürültü–Doz Analitiği

Yeniden oluşturulan görüntünün kalitesi; örnekleme sıklığı, gürültü seviyesi ve radyasyon dozu gibi faktörlere bağlıdır. Yetersiz örnekleme, Nyquist-Shannon teoremine aykırı olduğu için aliasing artefaktlarına yol açar (Kak & Slaney, 2001). Uzamsal çözünürlük Modülasyon Transfer Fonksiyonu (MTF) ile, gürültü ise Gürültü Güç Spektrumu (NPS) ile karakterize edilir. Genellikle çözünürlük ve gürültü arasında bir takas ilişkisi vardır (Buzug, 2008). Doz azaldıkça, foton sayımındaki Poisson istatistiğinden kaynaklanan kuantum gürültüsü artar.

6. Gelişmiş Konular

Sparse-View ve Sıkıştırılmış Algılama: Görüntünün kendisi seyrek (sparse) bir yapıya sahipse, sıkıştırılmış algılama (compressed sensing) teorisi, çok daha az ölçümle görüntünün doğru bir şekilde yeniden oluşturulabileceğini öne sürer (Candès vd., 2006). TV düzenlemesi, bu teorinin BT'deki en başarılı uygulamalarından biridir.

Metal Artefaktları: Metal implantların neden olduğu artefaktlar, sinogramdaki bozuk verileri enterpolasyonla dolduran veya iteratif yöntemlerde güçlü düzenleyiciler kullanan algoritmalarla azaltılabilir (Wang vd., 2016).

Derin Öğrenmeye Köprü: Son yıllarda derin öğrenme tabanlı yaklaşımlar BT yeniden oluşturmada belirgin bir paradigma değişimi doğurmuştur. Klasik iteratif algoritmaların ileri/geri izdüşüm ve düzenleme adımlarını sinir ağı bileşenleriyle “açan” (unrolled) çerçeveler, veri-tutarlılık (data consistency) adımlarını açıkça korurken, görüntü önbilgisini öğrenilmiş düzenleyiciler/denoiser’lar ile temsil eder; böylece düşük doz/sparse-view koşullarında gürültü ve artefakt baskılanırken kenar/kontrast korunumu iyileşir (Jin vd., 2017).

Klinik literatür, görüntü-alanı DLR (post-processing) ve veri-tutarlılık kısıtlı/unrolled DLR ayrımını vurgular: ilkinde düşük doz görüntü doğrudan ağ ile “rutin doz” benzerine dönüştürülürken, ikincisinde fiziksel ileri model ve sinogram düzlemiyle tutarlılık kısıtları döngü içinde sürdürülür. 2020 sonrası çalışmalar; abdominal BT’de DLR ile gürültü azalması ve SNR/kontrast artışı sağlayarak daha düşük doz rejimlerine olanak verdiğini ve metastaz gibi lezyonların değerlendirmesinde kaliteyi artırabildiğini bildirmektedir. Bununla birlikte çağdaş incelemeler, veri standardizasyonu, referans standart seçimi, görev-odaklı metrikler (yalnızca PSNR/SSIM değil, lezyon algılama/ölçüm kararlılığı gibi) ve genellenebilirlik/robustluk için çok merkezli doğrulamanın zorunlu olduğunu vurgular. Ayrıca YZ’nin protokolden rekonstrüksiyona ve aşağı akıştaki segmentasyon/radyomik görevlerine kadar iş akışına bütünsel entegrasyonu önerilmektedir. Bu çerçeve, özellikle çok-enerjili/spektral BT’de

malzeme ayrıştırma ile rekonstrüksiyonun ortak (joint) çözümü gibi fizik tabanlı hedeflerle de doğal olarak örtüşür; erken dönem bulgular umut vericidir ancak klinik iş akışı ve hesaplama yükü hâlen sınırlayıcıdır. FBP hız ve basitlik, IR ise düşük doz altında kararlılık sağlar. YZ tabanlı rekonstrüksiyon, bu iki dünyanın güçlü yönlerini birleştirerek veri-tutarlılık ve öğrenilmiş önbilgiyi aynı potada eritme olanağı sunmaktadır. Ancak klinik entegrasyon için çok-merkezli, görev temelli doğrulama ve sağlamlık testleri şarttır (Paudyal, 2023).

(i) Model-tabanlı derin öğrenme: 2020 sonrası eğilim, derin ağları fiziksel ileri modellerle birleştirerek veri-tutarlılığını garanti ederken, düzenleyiciyi öğrenilebilir kılmak oldu. Unrolled mimariler, ISTA/ADMM gibi algoritmaları katmanlara açarak uçtan uca eğitilir; Plug-and-Play/RED ise iteratif döngüde düzenleme adımını güçlü bir denoiser ile esnek biçimde değiştirir (Adler & Öktem, 2018). Bu sayede düşük doz ve sparse-view koşullarında gürültü/artefakt bastırılırken ayrıntı korunur; saf görüntü-alanı öğrenmenin yol açabileceği fiziksel tutarsızlık ve “halüsinasyon” riski azaltılır (Antun vd., 2020).

(ii) Sinirsel alan temsilleri: Görüntüyü piksel ızgarası yerine sürekli bir sinirsel fonksiyonla (implicit MLP) temsil etmek, projeksiyon az olduğunda dahi aradeğerleme ve çözünürlük esnekliği sağlar; aşırı seyrek görüş durumlarında TV tabanlı yöntemleri de aşan sonuçlar rapor edilmiştir.

(iii) Difüzyon temelli olasılıksal rekonstrüksiyon: Ölçüme uyan birden çok tutarlı çözümü örnekleyerek belirsizliği görselleştiren difüzyon modelleri, geri difüzyon adımlarını ölçüm yönlendirmesi ile birleştirir; klinik açıdan tanınal güveni nicelleştirme potansiyeli taşır. Yakın dönemde odak, çok-merkezli doğrulama, görev-odaklı metrikler ve hesaplama verimliliği üzerindedir.

7. Sonuç ve Gelecek Yönelimler

Bu bölüm, BT yeniden oluşturma probleminin matematiksel temelini, Radon dönüşümünden başlayarak modern optimizasyon ve öğrenme tabanlı yöntemlere kadar geniş bir perspektifte ele almıştır. FBP gibi analitik yöntemler hız ve basitlik sunarken, iteratif ve düzenlemeli yaklaşımlar, günümüzün en önemli klinik hedeflerinden olan düşük dozlu ve yüksek kaliteli görüntüleme için vazgeçilmez araçlar haline gelmiştir.

2020 sonrası dönem ise üç ana ekseninde özetlenebilecek bir devrime sahne olmaktadır:

Hibritleşme: Klasik, fizik-tabanlı denklemlerin, veri-odaklı öğrenilmiş modellerle birleştirilmesi.

Temsil Devrimi: Görüntülerin piksel gridleri yerine sürekli sinirsel alanlarla temsil edilmesi.

Olasılıksal Yaklaşım: Difüzyon modelleri gibi üretken yapay zeka teknikleriyle belirsizlik analizine olanak tanınması.

Bu gelişmelerin klinik pratiğe yansımaları derindir. Daha düşük radyasyon dozu ile daha yüksek kaliteli görüntüler elde etme, daha hızlı tarama ve zorlu artefaktlara karşı daha dayanıklı algoritmalar geliştirme potansiyeli bulunmaktadır. Ancak bu yeni nesil algoritmaların klinik kabule giden yolda, genelleştirilebilirlik, yorumlanabilirlik ve hesaplama maliyeti gibi zorlukları aşması gerekmektedir. Önümüzdeki yıllar, bu yenilikçi matematiksel ve algoritmik fikirlerin, günlük radyoloji pratiğini nasıl dönüştüreceğine tanıklık edecektir.

Kaynaklar

- Adler, J., & Öktem, O. (2018). Learned primal-dual reconstruction. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 37(6), 1322–1332.
- Antun, V., Renna, F., Poon, C., Adcock, B., & Hansen, A. C. (2020). On instabilities of deep learning in image reconstruction and the potential costs of AI. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(48), 30088–30095.
- Bracewell, R. N. (1956). Strip integration in radio astronomy. *Australian Journal of Physics*, 9(2), 198–217.
- Buzug, T. M. (2008). *Computed tomography: From photon statistics to modern cone-beam CT*. Springer.
- Candès, E. J., Romberg, J., & Tao, T. (2006). Robust uncertainty principles: Exact signal reconstruction from highly incomplete frequency information. *IEEE Transactions on Information Theory*, 52(2), 489–509.
- Chen, H., et al. (2024). Low-dose CT with deep learning reconstruction: A comprehensive review. *Bioengineering*, 11(5), 456.
- Deans, S. R. (2007). *The radon transform and some of its applications*. Dover Publications.
- Epstein, C. L. (Ed.). (2007). *Introduction to the mathematics of medical imaging*. Society for Industrial and Applied Mathematics.
- Feeman, T. G. (2010). *The mathematics of medical imaging*. Springer New York.
- Feldkamp, L. A., Davis, L. C., & Kress, J. W. (1984). Practical cone-beam algorithm. *Journal of the Optical Society of America A*, 1(6), 612–619.
- Gilbert, P. (1972). Iterative methods for the three-dimensional reconstruction of an object from projections. *Journal of Theoretical Biology*, 36(1), 105–117.
- Gordon, R., Bender, R., & Herman, G. T. (1970). Algebraic reconstruction techniques (ART) for three-dimensional electron microscopy and X-ray photography. *Journal of Theoretical Biology*, 29(3), 471–481.
- Herman, G. T. (2009). *Fundamentals of computerized tomography: Image reconstruction from projections (2nd ed.)*. Springer.
- Hounsfield, G. N. (1973). Computerized transverse axial scanning (tomography): Part 1. Description of system. *The British Journal of Radiology*, 46(552), 1016–1022.
- Jin, K. H., McCann, M. T., Froustey, E., & Unser, M. (2017). Deep convolutional neural network for inverse problems in imaging. *IEEE Transactions on Image Processing*, 26(9), 4509–4522.

- Kak, A. C., & Slaney, M. (2001). *Principles of computerized tomographic imaging*. Society for Industrial and Applied Mathematics (SIAM).
- Koetzier, L. R., Willeminck, M. J., et al. (2023). Deep learning reconstruction for CT: Physics, image quality, and clinical applications. *Radiology*, 307(1), e222916.
- Mueller, J. L., & Siltanen, S. (Eds.). (2012). *Linear and nonlinear inverse problems with practical applications*. Society for Industrial and Applied Mathematics.
- Natterer, F. (2001). *The mathematics of computerized tomography*. Society for Industrial and Applied Mathematics (SIAM).
- Paudyal, R., Shah, A. D., Akin, O., Do, R. K., Konar, A. S., Hatzoglou, V., ... & Shukla-Dave, A. (2023). Artificial intelligence in CT and MR imaging for oncological applications. *Cancers*, 15(9), 2573.
- Radon, J. (1917). Über die Bestimmung von Funktionen durch ihre Integralwerte längs gewisser Mannigfaltigkeiten [On the determination of functions from their integral values along certain manifolds]. *Berichte über die Verhandlungen der Königlich Sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften zu Leipzig, Mathematisch-Physische Klasse*, 69, 262–277.
- Ramachandran, G. N., & Lakshminarayanan, A. V. (1971). Three-dimensional reconstruction from radiographs and electron micrographs: Application of convolutions instead of Fourier transforms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 68(9), 2236–2240.
- Rudin, L. I., Osher, S., & Fatemi, E. (1992). Nonlinear total variation based noise removal algorithms. *Physica D: Nonlinear Phenomena*, 60(1–4), 259–268.
- Shehata, M. A., et al. (2023). Clinical utility of deep-learning reconstruction in CT: A systematic review. *Insights into Imaging*, 14(1), 68.
- Sidky, E. Y., & Pan, X. (2008). Image reconstruction in circular cone-beam computed tomography by constrained, total-variation minimization. *Physics in Medicine & Biology*, 53(17), 4777–4807.
- Szczykutowicz, T. P., et al. (2022). Deep learning image reconstruction for CT: Concepts and clinical implications. *Journal of Medical Imaging*, 9(6), 062502.
- Wang, G., Yu, H., & De Man, B. (2016). An outlook on the deep learning era for medical imaging. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 35(3), 665–667.
- Yu, Z., et al. (2023). Sparse-view CT reconstruction: A review of model- and learning-based methods. *Visual Computing for Industry, Biomedicine and Art*, 6(1), 1–20.

Willemink, M. J., & Noël, P. B. (2019). The evolution of image reconstruction for CT—from filtered back projection to artificial intelligence. *European radiology*, 29(5), 2185-2195.



BÖLÜM 6

Meme Kanserinde Epigenetik Düzenleme: DNA Metilasyonunun Rolü ve Klinik Önemi

Esen Çakmak¹

Giriş

Meme kanseri, dünya genelinde kadınlarda en sık görülen malignitelerden biridir ve özellikle genetik yatkınlığı bulunan bireylerde görülme sıklığı artmaktadır. Ancak vakaların yaklaşık %80–90’ı, aile öyküsü veya belirgin bir neden olmaksızın ortaya çıkan sporadik tümörlerden oluşmaktadır (Giaquinto vd., 2022; Rojas vd., 2016). Kalan yaklaşık %20’lik kısım ise çoğunlukla BRCA1/2 genlerindeki kalıtsal mutasyonlarla ilişkilendirilmiştir (Solano vd., 2021). Bunun yanı sıra PALB2, CHEK2, NBN ve CDKN2A gibi genler de meme kanseri gelişiminde kritik rol oynamaktadır (Behl vd., 2020; Yadav vd., 2023; Bartels vd., 2018). Ayrıca EGFR2/HER2 ve HER1 onkogenleri, hücre proliferasyonu, invazyon ve apoptozun düzenlenmesinde önemli etkiler göstererek, terapötik hedefler olarak güncel tedavi stratejilerinde kullanılmaktadır (Pedroza vd., 2020).

Meme kanseri moleküler olarak dört ana alt tipe ayrılmaktadır: Luminal A ve B, HER2 pozitif (non-luminal) ve triple negatif (basal-like). Luminal A tümörler ER ve PR pozitif, HER2 negatif ve düşük Ki-67 proliferasyon indeksine sahiptir; genellikle hormon tedavisi ile kontrol edilebilir. Luminal B alt tipi ise ER pozitif, PR düşük veya negatif, HER2 pozitif veya negatif ve yüksek Ki-67 düzeyleri ile karakterizedir; tedavi planında hormon tedavisine ek olarak kemoterapi ve HER2 hedefli ajanlar kullanılabilir. HER2 pozitif tümörler ER ve PR negatif olup, agresif seyir gösterir ve trastuzumab/pertuzumab gibi hedefli tedavilere yanıt verir. Triple negatif tümörler ise ER, PR ve HER2’den yoksundur, en agresif alt tip olarak erken metastaz potansiyeli taşır ve standart olarak kemoterapi ile tedavi edilir; günümüzde PD-1/PD-L1 inhibitörleri ile immünoterapi yaklaşımları yoğun olarak araştırılmaktadır (Thakur vd., 2022).

Epigenetik değişiklikler, DNA dizisinde herhangi bir mutasyon olmaksızın gen aktivitesini düzenleyen ve meme kanseri gelişiminde kritik rol oynayan mekanizmalardır (Cavalli vd., 2019). Bu mekanizmalar; gen transkripsiyonu, genomik stabilite, hücre büyümesi, farklılaşma ve bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesi gibi temel biyolojik süreçleri etkiler (Kim vd., 2023). Epigenetik

¹ Doç. Dr., Biyomühendislik ve Bilimleri Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş, Türkiye
ORCID: 0000-0001-8805-3315

düzenlemeler genetik mutasyonlardan farklı olarak geri döndürülebilir olduğundan, küçük moleküller aracılığıyla hedeflenebilir ve immünoterapi etkinliğini artırabilir (Garcia-Martinez vd., 2021).

DNA metilasyonu, epigenetik değişiklikler arasında en çok çalışılan mekanizmadır. CpG adası bölgelerinde sitozin bazına metil grubu eklenmesiyle gerçekleşen bu modifikasyon, DNMT3A, DNMT3B ve DNMT1 gibi DNA metiltransferazlar ile TET enzimleri tarafından düzenlenir (Davalos vd., 2023). Normal hücrelerde promotör bölgelerinde CpG metilasyonu nadirdir ve genellikle X kromozomu inaktivasyonu veya dokuya özgü genlerle sınırlıdır. Ancak kanser hücrelerinde promotör hipermetilasyonu tümör baskılayıcı genlerin susturulmasına yol açarken, gen gövdesi ve tekrarlayan dizilerde hipometilasyon kromozomal instabiliteyi artırmakta ve transpozonların yeniden aktivasyonuna neden olmaktadır (Esteller, 2007; Aran vd., 2011). Bu değişiklikler, tümör progresyonu, metastaz ve tedaviye direnç mekanizmalarında önemli rol oynamaktadır (Berdasco vd., 2019; Davalos vd., 2023).

Sonuç olarak, DNA metilasyonu meme kanserinde hem moleküler mekanizmaların anlaşılmasında hem de biyobelirteç ve terapötik hedef olarak klinik uygulamalarda giderek artan öneme sahiptir. Girişte belirtilen moleküler alt tipler ve genetik/epigenetik değişiklikler, epigenom temelli tanı, prognoz ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde kritik bir temel oluşturmaktadır.

DNA metilasyonu mekanizması

DNA metilasyonu, DNA dizisinde herhangi bir değişiklik olmaksızın genetik bilginin düzenlenmesini sağlayan temel epigenetik mekanizmalardan biridir. Bu süreç, CpG dinükleotidlerindeki sitozin bazının 5. karbonuna metil grubunun eklenmesi ile gerçekleşir ve genellikle üç DNA metiltransferaz (DNMT1, DNMT3A ve DNMT3B) tarafından katalize edilir (Okano vd., 1999; Vietri vd., 2021). CpG adası promotörlerinde gerçekleşen metilasyon, transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasını engelleyerek ilgili genin baskılanmasına veya tamamen susturulmasına yol açabilir. Normal fizyolojik koşullarda DNA metilasyonu, dokuya özgü gen ekspresyonunu düzenler, genomik stabiliteyi korur ve transpozon elementlerini susturur. Ancak kanser gibi patolojik durumlarda DNA metilasyon paternleri bozulur; global hipometilasyon kromozomal instabiliteyi artırırken, promotör hipermetilasyonu tümör baskılayıcı genlerin susturulmasına neden olur ve tümör gelişimi ile progresyonunda kritik rol oynar (Szczepek vd., 2023).

Hipermetilasyon

Hipermetilasyon, en sık görülen epigenetik anormalliklerden biridir. DNA üzerindeki belirli bölgelerde, özellikle gen promotörlerindeki CpG adacıklarında

normalden fazla metil grubunun eklenmesiyle oluşur. Bu durum, genellikle tümör baskılayıcı genlerin susturulmasına yol açarak onkogeneze katkıda bulunur (Ma vd., 2023). Normal koşullarda promotör bölgelerinde metillenme yoktur ve tümör baskılayıcı genler aktiftir. Hipermetilasyon sonucunda bu genlerin transkripsiyonu engellenir, bu da kontrolsüz hücre çoğalması ve tümör ilerlemesini tetikler (Downs vd., 2015). DNA hipermetilasyonu ayrıca transkripsiyon faktörlerini ve DNA onarım genlerini inaktive ederek, çeşitli gen sınıflarının dolaylı olarak susturulmasına neden olur. Meme kanserinde hipermetilasyonu en çok incelenen gen BRCA1'dir (Vasilatos vd., 2009). BRCA1, DNA onarımı, hücre döngüsü kontrolü, protein ubiquitinasyonu ve kromatin yeniden şekillenmesinde görev alan bir gendir; hipermetilasyon sonucu genin transkripsiyonel susturulması, kontrolsüz hücre çoğalmasını teşvik ederek metastazla sonuçlanabilir (Somasundaram, 2023). BRCA1 dışında, RASSF1A, p16 (CDKN2A), GSTP1 gibi genlerin hipermetilasyonu da meme kanserinde sık görülür ve prognostik veya erken tanı biyobelirteçleri olarak değerlendirilmektedir (Li vd., 2021; Zhao vd., 2022). Ayrıca, DNMT inhibitörleri kullanılarak hipermetilasyon geri döndürülebilmekte ve bu strateji kemoterapi veya immünoterapi ile kombinasyon potansiyeli göstermektedir (Morel vd., 2020). Hipermetilasyon profilleri, farklı meme kanseri alt tiplerinde değişiklik gösterebilir ve bu da tedavi yanıtını ve prognozu etkileyebilir. BRCA1 ve diğer hipermetile genlerin ayrıntılı listesi Tablo 1'de sunulmuştur.

Hipometilasyon

Hipometilasyon, özellikle proto-onkogenlerin ve metastazla ilişkili genlerin aşırı ekspresyonuna yol açarak meme kanserinin ilerlemesine önemli katkıda bulunan bir epigenetik mekanizmadır. Global hipometilasyon, LINE-1, Alu ve satelit DNA gibi tekrar eden dizilerde görüldüğünde genom instabilitesine, kromozomal kırıklara ve translokasyonlara yol açar (Hosseini vd., 2024). Gen düzeyinde hipometilasyon ise MYC, Ras ve IGF2 gibi genlerin aşırı ekspresyonunu tetikleyerek kontrolsüz hücre proliferasyonu ve tümör büyümesini destekler (Hazra vd., 2021; Radhakrishnan vd., 2020).

Tablo 1. Meme Kanserinde Hipermetilasyonla Susturulan Temel Genler ve Fonksiyonları

Gen	Görevi	Hipermetilasyon Sonucu
BRCA1	DNA çift zincir kırıklarının homolog rekombinasyonla onarımı	DNA onarımı bozulur, genom instabilitesi artar
p16 (CDKN2A)	Hücre döngüsünde G1→S geçişini durdurur (CDK inhibitörü)	Hücre döngüsü kontrolsüz ilerler, proliferasyon artar
ERα (ESR1)	Östrojen reseptörü; hormon sinyali ve meme gelişimi	Reseptör kaybı → hormon tedavisine direnç gelişebilir

RASSF1A	Hücre döngüsü düzeni, mikrotübül stabilizasyonu, apoptoz	Hücre proliferasyonu ve tümör progresyonu artar
GSTP1	Detoksifikasyon, oksidatif stres ve karsinojenlere karşı koruma	DNA hasarına duyarlılık ve mutasyon oranı artar
HIN-1 (SCGB3A1)	Normal meme dokusunda büyümeyi baskılar	Ekspresyon kaybolur, tümör gelişimi kolaylaşır
APC	Wnt/ β -katenin yolunu baskılar, proliferasyonu sınırlar	Wnt yolu aşırı aktive olur, tümör gelişimi hızlanır
E-cadherin (CDH1)	Hücre-hücre adezyonu, invazyon/metastazı baskılar	Adezyon kaybolur → invazyon ve metastaz kolaylaşır

Bunun yanı sıra, MUC1, uPA ve MMP'ler gibi hücre adezyonu ve ekstrasellüler matriksin parçalanmasında görevli genlerin hipometilasyonu, invazyon ve metastaz potansiyelini artırır (Kim vd., 2022). Bu mekanizmalar, hipometilasyonun meme kanserinde onkogen aktivasyonu, metastaz gelişimi ve genom instabilitesi yoluyla tümör ilerlemesinde kritik rol oynadığını göstermektedir. Güncel çalışmalar, hipometilasyonun tespit edilmesinin erken tanı, prognoz değerlendirmesi ve tedaviye yanıtın izlenmesi için potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır (Davalos vd., 2023; Garcia-Martinez vd., 2021). Ayrıca, DNA metilasyonu modülasyonu ile proto-onkogenlerin ekspresyonunun kontrol edilmesi, gelecekte meme kanserinde kişiselleştirilmiş epigenetik terapötik stratejilerin geliştirilmesine olanak sağlayabilir. Meme Kanserinde Hipometilasyonla ekspresyonu artan temel genler ve özellikleri Tablo 2 de sunulmuştur.

Tablo 2. Meme Kanserinde Hipometilasyonla ekspresyonu artan Temel Genler ve Fonksiyonları

Gen	Görevi	Hipometilasyon Sonucu
c-MYC	Hücre proliferasyonu, büyüme ve diferansiyasyonun düzenlenmesi	Aşırı ekspresyon → kontrolsüz hücre çoğalması, tümör progresyonu
Ras (H-Ras, K-Ras)	Hücre içi sinyal iletimi (MAPK, PI3K yolları)	Sürekli proliferasyon sinyali → onkogenik aktivasyon
IGF2 (Insulin-like Growth Factor 2)	Hücre büyümesi ve gelişimi, genomik imprinting ile kontrol edilir	Anormal ekspresyon → tümör büyümesini hızlandırır
MUC1 (Mucin 1)	Hücre adezyonu, yüzey sinyal iletimi	Aşırı ekspresyon → invazyon ve metastaz artışı
uPA (Urokinase Plasminogen Activator)	Ekstrasellüler matriksin parçalanması, hücre invazyonu	Aktivite artışı → metastatik potansiyel yükselir

MMP'ler Metalloproteinazlar, MMP1, MMP2)	(Matrix örn.	Ekstrasellüler yıkımı, hücre hareketliliği	matriksin DNA	Yüksek invazyon kolaylaşır	ekspresyon ve metastaz	→
LINE-1, Alu, Satelit DNA		Tekrar eden elementleri, stabilitesi	genom	Aktivasyon instabilitesi riski artar	→ kromozom ve mutasyon	

DNA metilasyonunun klinik önemi

Meme kanserinde DNA metilasyonu hem biyobelirteç hem de tedavi hedefi olarak önemli klinik potansiyele sahiptir. Yüksek verimli teknolojilerin gelişmesiyle birlikte, epigenetik mekanizmaların rolü daha iyi anlaşılmış ve tanı, prognoz ile tedaviye yanıtın öngörülmesinde kullanılabilecek biyobelirteçler tanımlanmıştır. Genetik mutasyonlardan farklı olarak geri döndürülebilir olan epigenetik değişiklikler, ilaç geliştirme açısından cazip hedefler sunmaktadır.

DNA metilasyonunun analizi başlangıçta restriksiyon enzimleri ve Southern hibridizasyonu ile yapılırken, sodyum bisülfid tekniği metillenmiş ve metillenmemiş sitozinlerin ayırt edilmesini mümkün kılmıştır. Bu yöntemle metilasyona özgü PCR gibi lokus-spesifik analizler geliştirilmiş, ardından yüksek verimli dizileme yöntemleriyle tüm genom çapında metilasyon profilleri elde edilmiştir (Clark vd., 1994). Tüm genom bisülfid dizilemesi (WGBS) en kapsamlı veriyi sunsa da maliyet ve hesaplama zorlukları kullanımını sınırlamaktadır. Bu nedenle RRBS, MeDIP-seq ve MBD-seq gibi alternatif yöntemler geliştirilmiştir. Özellikle Illumina 450K ve EPIC BeadChip platformları, TCGA gibi büyük çaplı projelerde binlerce örneğin profillenmesini sağlamış ve makine öğrenmesine dayalı epigenetik sınıflandırıcıların (ör. MSS tümörleri, CUP, immünoterapi yanıt tahmini) geliştirilmesine zemin hazırlamıştır (Li vd., 2010). Ayrıca, üçüncü nesil nanopore dizileme teknolojisi, metilasyonu doğrudan saptama potansiyeli ile dikkat çekmektedir (Rand vd., 2017). Bu genom çaplı yaklaşımlar klinik biyobelirteçlerin keşfini hızlandırırken, qPCR, ddPCR, MethyLight ve pirosekanslama gibi hedefe yönelik yöntemler, aday biyobelirteçlerin klinik uygulamalara taşınmasını kolaylaştırmaktadır (Yu vd., 2015).

Epigenetik biyobelirteçler tedavi yanıtını öngörmeye umut verici olsa da epigenetik terapilerin klinik pratiğe geçişi sınırlı kalmıştır. Bunun en önemli nedeni epigenetik değişikliklerin hücre tipine özgü ve heterojen olmasıdır (Garcia-Manero vd., 2020). Bugüne kadar epigenetik ilaçlar özellikle hematolojik malignitelerde başarıyla kullanılmış, katı tümörlerde ise kısıtlı etki gözlenmiştir. Meme kanserinde en umut verici yaklaşım, epigenetik tedavilerin direnç mekanizmalarını aşarak tümörleri diğer tedavilere duyarlı hale getirmesidir (Morel vd., 2020).

Bu bağlamda, DNA metiltransferaz inhibitörleri (DNMTi) ve histon deasetilaz inhibitörleri (HDACi) en çok araştırılan epigenetik ajanlardır. DNMT inhibitörleri (azasitidin ve desitabin), tümör baskılayıcı genlerin yeniden ekspresyonunu sağlayarak anormal epigenetik modifikasyonları tersine çevirmekte ve aynı zamanda tümör immün mikroçevresini yeniden şekillendirerek immün yanıtları artırabilmektedir (Riyas vd., 2025). Özellikle DNMTi'ler, tümör hücrelerinde antijen sunumunu ve interferon-benzeri yolları aktive ederek “immün-soğuk” tümörleri “immün-sıcak” fenotipe dönüştürebilmektedir. Bu nedenle PD-1/PD-L1 inhibitörleriyle kombinasyonlarda sinerjik etki potansiyeli taşımaktadır. Nitekim neoadjuvan bağlamda decitabine + pembrolizumab kombinasyonunu test eden faz 2 klinik çalışmalar raporlanmıştır (Daifuku, 2025). Klinik öncesi modellerde DNMT inhibitörleri hem ER-pozitif hem de TNBC alt tiplerinde anti-tümör etkinlik göstermiş; özellikle desitabin, tümör baskılayıcı genlerin yeniden ekspresyonunu indüklemiştir. Ancak tek başına DNMT inhibitörlerinin meme kanserinde klinik etkinliği kanıtlanmamış olup, güncel araştırmalar bu ilaçların kemoterapi ve immünoterapi ile kombinasyonlarını değerlendirmektedir (Lavoro vd., 2025; Tarhonska vd., 2025).

Metilasyon değişiklikleri düzeyinde, ESR1 ve BRCA1 gibi genlerdeki epigenetik değişikliklerle başlayan araştırmalar, binlerce gende anormal metilasyon örüntüsünün varlığını ortaya koymuştur (Vietri vd., 2021). Ayrıca, güçlendirici bölgelerdeki metilasyon değişiklikleri, ER, FOXA1 ve GATA3 gibi transkripsiyon faktörlerinin bağlanması bozarak transkripsiyonel ağları etkilemekte ve özellikle endokrin dirençli tümörlerde tedaviye yanıtı azaltmaktadır (Zarean vd., 2025). TNBC’de farklı metilasyon profilleri ve DNMT1’in onkojenik rolü gösterilmiş; ayrıca prognostik değeri yüksek metilasyon imzaları tanımlanmıştır (Tarhonska vd., 2025). Bunun yanı sıra, tümör mikroçevresindeki kanser ilişkili fibroblastlarda (CAF) da metilasyon değişiklikleri gözlenmiş ve bu değişikliklerin sağkalım ile tedavi direnciyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Faldoni vd., 2024).

Son yıllarda özellikle dolaşımdaki tümör DNA’sının (ctDNA) metilasyon profilleri, meme kanserinde minimal invaziv biyobelirteçler olarak büyük ilgi görmektedir (Li vd., 2024). SEPT9, RASSF1A ve GSTP1 gibi genlerdeki metilasyon değişiklikleri plazma örneklerinden saptanabilmekte ve erken tanı, prognoz ile tedaviye yanıt takibinde kullanılabilmektedir (Matsui vd., 2016; Ibrahim vd., 2023). Bununla birlikte, farklı moleküler alt tiplerde (Luminal A/B, HER2+, TNBC) görülen özgün metilasyon imzaları hem sınıflandırmada hem de hedefe yönelik tedavi seçiminde yol gösterici olmaktadır. Ayrıca, DNMT inhibitörleri sadece immünoterapilerle değil, aynı zamanda PARP inhibitörleri ve endokrin tedavilerle kombinasyonlarda da araştırılmaktadır. Ancak bu ilaçların

dozlama, toksisite ve off-target etkileri klinik uygulamayı sınırlamaktadır (Kundu vd., 2025).

Sonuç ve Gelecek Perspektif

DNA metilasyonu, meme kanserinde hem biyobelirteç hem de terapötik hedef olarak benzersiz bir potansiyel taşımaktadır. Özellikle dolaşımdaki tümör DNA'sı (ctDNA) metilasyon profilleri, minimal invaziv erken tanı ve tedavi takibi için önemli fırsatlar sunmaktadır. Bu yaklaşım sayesinde, rekürrens izlemi ve tedavi yanıtının değerlendirilmesi daha hassas bir şekilde yapılabilir. Metilasyon profilleri, farklı moleküler alt tiplerin (Luminal A/B, HER2+, TNBC) sınıflandırılmasında ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin belirlenmesinde yol gösterici rol oynamaktadır. DNMT inhibitörleri ve diğer epigenetik ajanlar, immünoterapi, PARP inhibitörleri ve endokrin tedavilerle kombinasyonlarda kullanıldığında dirençli tümör hücrelerini duyarlı hâle getirebilmekte ve tümör immün mikroçevresini yeniden şekillendirebilmektedir. Bununla birlikte, metilasyon değişikliklerinin hücre tipi ve tümör heterojenitesine bağlı olarak değişmesi, hedeflenmesini zorlaştırmaktadır. Epigenetik ilaçların off-target etkileri, hematolojik toksisite ve optimal dozlama sorunları da klinik uygulamayı sınırlamaktadır. ctDNA metilasyon analizlerinin henüz standart klinik uygulamaya tam olarak entegre edilmemesi, bazı biyobelirteçlerin duyarlılığı ve özgüllüğünün yeterli olmaması gibi kısıtlamalar mevcuttur. Buna rağmen, bu yaklaşımlar, erken tanı ve tedavi etkinliğinin artırılması açısından büyük bir gelecek vaat etmektedir. Önümüzdeki yıllarda daha hassas ctDNA metilasyon panelleri ve makine öğrenmesi tabanlı sınıflandırıcılar sayesinde, kişiye özel tedavi stratejileri daha uygulanabilir hâle gelecektir. Epigenetik terapilerin kombinasyon çalışmalarıyla desteklenmesi, hem sağkalımı artıracak hem de tedavi dirençlerini aşmada klinik değeri güçlendirecektir. Sonuç olarak, DNA metilasyonu tabanlı biyobelirteçler ve terapötik yaklaşımlar, meme kanserinde kişiselleştirilmiş onkoloji alanında önemli bir rol üstlenmeye adaydır.

Kaynaklar

- Aran, D., Toperoff, G., Rosenberg, M., & Hellman, A. (2011). Replication timing-related and gene body-specific methylation of active human genes. *Human Molecular Genetics*, 20(4), 670–680. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq513>
- Bartels, S., van Luttikhuisen, J. L., Christgen, M., Mägel, L., Luft, A., Hänzelmann, S., ... & Kreipe, H. (2018). CDKN2A loss and PIK3CA mutation in myoepithelial-like metaplastic breast cancer. *The Journal of Pathology*, 245(3), 373–383. <https://doi.org/10.1002/path.5081>
- Behl, S., Hamel, N., de Ladurantaye, M., Lepage, S., Lapointe, R., Mes-Masson, A. M., & Foulkes, W. D. (2020). Founder BRCA1/BRCA2/PALB2 pathogenic variants in French-Canadian breast cancer cases and controls. *Scientific Reports*, 10(1), 6491. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63320-1>
- Berdasco, M., & Esteller, M. (2019). Clinical epigenetics: Seizing opportunities for translation. *Nature Reviews Genetics*, 20(2), 109–127. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0074-2>
- Cavalli, G., & Heard, E. (2019). Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease. *Nature*, 571(7766), 489–499. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1411-0>
- Clark, S. J., Harrison, J., Paul, C. L., & Frommer, M. (1994). High sensitivity mapping of methylated cytosines. *Nucleic Acids Research*, 22(15), 2990–2997. <https://doi.org/10.1093/nar/22.15.2990>
- Daifuku, R. (2025). The promise of DNA methyltransferase inhibitors for the treatment of triple negative breast cancer. *Medical Research Archives*, 13(2). <https://doi.org/10.18103/mra.v13i2.5031>
- Davalos, V., & Esteller, M. (2023). Cancer epigenetics in clinical practice. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 73(4), 376–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21767>
- Downs, B., & Wang, S. M. (2015). Epigenetic changes in BRCA1-mutated familial breast cancer. *Cancer Genetics*, 208(5), 237–240. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2015.01.004>
- Esteller, M. (2007). Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. *Nature Reviews Genetics*, 8(4), 286–298. <https://doi.org/10.1038/nrg2005>
- Faldoni, F. L. C., et al. (2024). DNA methylation profile of inflammatory breast cancer and its association with clinical/molecular features. *Clinical Epigenetics*, 16(1), 25. <https://doi.org/10.1186/s13148-024-01695-x>

- Garcia-Manero, G., Griffiths, E. A., Steensma, D. P., Roboz, G. J., Wells, R., McCloskey, J., ... & Savona, M. R. (2020). Oral cedazuridine/decitabine for MDS and CMML: A phase 2 pharmacokinetic/pharmacodynamic randomized crossover study. *Blood*, 136(6), 674–683. <https://doi.org/10.1182/blood.2020004834>
- Garcia-Martinez, L., Zhang, Y., Nakata, Y., et al. (2021). Epigenetic mechanisms in breast cancer therapy and resistance. *Nature Communications*, 12, 1786. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22024-3>
- Giaquinto, A. N., Sung, H., Miller, K. D., Kramer, J. L., Newman, L. A., Minihan, A., ... & Siegel, R. L. (2022). Breast cancer statistics, 2022. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 72(6), 524–541. <https://doi.org/10.3322/caac.21754>
- Hazra, A., Bose, P., Sunita, P., & Pattanayak, S. P. (2021). Molecular epigenetic dynamics in breast carcinogenesis. *Archives of Pharmacal Research*, 44(8), 741–763. <https://doi.org/10.1007/s12272-021-01354-8>
- Hosseini, M., Feghhi-Najafabadi, S., & Azad, M. (2024). A review on the impact of aberrant methylation in breast cancer: Diagnostic, prognostic, and therapeutic approaches. *Iranian Journal of Biotechnology*, 22(4), e3897. <https://doi.org/10.30498/IJB.2024.3897>
- Ibrahim, J., et al. (2023). Methylation biomarkers for early cancer detection and prognosis. *Cancer Letters*, 530, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2022.11.029>
- Kim, A., Mo, K., Kwon, H., Choe, S., Park, M., Kwak, W., & Yoon, H. (2023). Epigenetic regulation in breast cancer: Insights on epidrugs. *Epigenomes*, 7(1), 6. <https://doi.org/10.3390/epigenomes7010006>
- Kim, H. W., Park, J. E., Baek, M., Kim, H., Ji, H. W., Yun, S. H., ... & Kim, S. J. (2022). Matrix metalloproteinase-1 (MMP1) upregulation through promoter hypomethylation enhances tamoxifen resistance in breast cancer. *Cancers*, 14(5), 1232. <https://doi.org/10.3390/cancers14051232>
- Kundu, S., et al. (2025). Epigenetic regulators in cancer therapy and progression. *Nature Reviews Cancer*, 25(2), 123–136. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-01003-7>
- Lavoro, A., Ricci, D., Gattuso, G., Longo, F., Spoto, G., Vitale, A. C. V., ... & Candido, S. (2025). Recent advances on gene-related DNA methylation in cancer diagnosis, prognosis, and treatment: A clinical perspective. *Clinical Epigenetics*, 17(1), 76. <https://doi.org/10.1186/s13148-025-01676-7>
- Li, L., Zhang, Y., & Wang, X. (2024). Circulating tumor DNA methylation detection as biomarker for breast cancer. *Molecular and Cellular Oncology*, 11(3), 766–774. <https://doi.org/10.1002/mco2.766>

- Li, N., Ye, M., Li, Y., Yan, Z., Butcher, L. M., Sun, J., ... & Wang, J. (2010). Whole genome DNA methylation analysis based on high throughput sequencing technology. *Methods*, 52(3), 203–212. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2010.04.009>
- Ma, L., Li, C., Yin, H., Huang, J., Yu, S., Zhao, J., Tang, Y., Yu, M., Lin, J., Ding, L., & Cui, Q. (2023). The mechanism of DNA methylation and miRNA in breast cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), 9360. <https://doi.org/10.3390/ijms24119360>
- Matsui, S., et al. (2016). Methylation of the SEPT9_v2 promoter as a novel marker for the detection of circulating tumor DNA in breast cancer patients. *Oncology Reports*, 36(4), 2225–2232. <https://doi.org/10.3892/or.2016.5004>
- Morel, D., Jeffery, D., Aspeslagh, S., Almouzni, G., & Postel-Vinay, S. (2020). Combining epigenetic drugs with other therapies for solid tumours—past lessons and future promise. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 17(2), 91–107. <https://doi.org/10.1038/s41571-019-0267-4>
- Okano, M., Bell, D. W., Haber, D. A., & Li, E. (1999). DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. *Cell*, 99(3), 247–257. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81656-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81656-6)
- Pedroza, D. A., Rajamanickam, V., Subramani, R., Bencomo, A., Galvez, A., & Lakshmanaswamy, R. (2020). Progesterone receptor membrane component 1 promotes the growth of breast cancers by altering the phosphoproteome and augmenting EGFR/PI3K/AKT signalling. *British Journal of Cancer*, 123(8), 1326–1335. <https://doi.org/10.1038/s41416-020-1026-7>
- Radhakrishnan, V. K., Ravichandran, K., Eke, C., Ortiz-Vicil, A., Tan, Q., De León, M., & De León, D. D. (2020). Methylation of a newly identified region of the INS-IGF2 gene determines IGF2 expression in breast cancer tumors and in breast cancer cells. *Oncotarget*, 11(44), 3904–3916. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.27777>
- Rand, A. C., Jain, M., Eizenga, J. M., Musselman-Brown, A., Olsen, H. E., Akeson, M., & Paten, B. (2017). Mapping DNA methylation with high-throughput nanopore sequencing. *Nature Methods*, 14(4), 411–413. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4189>
- Riyas Mohamed, F. R., Aldubaisi, S., Akbar, A., Khan, M. I., & Yaqinuddin, A. (2025). Epigenetic reprogramming by decitabine in triple-negative breast cancer: Mechanisms, immune modulation, and therapeutic synergy. *Cancers*, 17(18), 2953. <https://doi.org/10.3390/cancers17182953>

- Rojas, K., & Stuckey, A. (2016). Breast cancer epidemiology and risk factors. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 59(4), 651–672. <https://doi.org/10.1097/GRF.0000000000000239>
- Solano, A. R., Mele, P. G., Jalil, F. S., Liria, N. C., Podesta, E. J., & Gutiérrez, L. G. (2021). Study of the genetic variants in BRCA1/2 and non-BRCA genes in a population-based cohort of 2155 breast/ovary cancer patients, including 443 triple-negative breast cancer patients, in Argentina. *Cancers*, 13(11), 2711. <https://doi.org/10.3390/cancers13112711>
- Somasundaram, K. (2003). Breast cancer gene 1 (BRCA1): Role in cell cycle regulation and DNA repair—perhaps through transcription. *Journal of Cellular Biochemistry*, 88(6), 1084–1091. <https://doi.org/10.1002/jcb.10462>
- Szczepanek, J., Skorupa, M., Jarkiewicz-Tretyn, J., Cybulski, C., & Tretyn, A. (2023). Harnessing epigenetics for breast cancer therapy: The role of DNA methylation, histone modifications, and microRNA. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(8), 7235. <https://doi.org/10.3390/ijms24087235>
- Tarhonska, K., Wichtowski, M., Wow, T., Kołacińska-Wow, A., Płoszka, K., Fendler, W., ... & Jabłońska, E. (2025). DNA methylation and demethylation in triple-negative breast cancer: Associations with clinicopathological characteristics and the chemotherapy response. *Biomedicines*, 13(3), 585. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13030585>
- Thakur, C., Qiu, Y., Fu, Y., Bi, Z., Zhang, W., Ji, H., & Chen, F. (2022). Epigenetics and the environment in breast cancer: New paradigms for anticancer therapies. *Frontiers in Oncology*, 12, 971288. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.971288>
- Vasilatos, S. N., Broadwater, G., Barry, W. T., Baker Jr, J. C., Lem, S., Dietze, E. C., ... & Seewaldt, V. L. (2009). CpG island tumor suppressor promoter methylation in non-BRCA-associated early mammary carcinogenesis. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 18(3), 901–914. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-08-0810>
- Vietri, M. T., et al. (2021). DNA methylation and breast cancer: A way forward. *International Journal of Oncology*, 59(6), 112. <https://doi.org/10.3892/ijo.2021.5278>
- Vietri, M. T., D’Elia, G., Benincasa, G., Ferraro, G., Caliendo, G., Nicoletti, G. F., & Napoli, C. (2021). DNA methylation and breast cancer: A way forward. *International Journal of Oncology*, 59(5), 1–12. <https://doi.org/10.3892/ijo.2021.5230>
- Yadav, S., Boddicker, N. J., Na, J., Polley, E. C., Hu, C., Hart, S. N., ... & Couch, F. J. (2023). Contralateral breast cancer risk among carriers of germline pathogenic variants in ATM, BRCA1, BRCA2, CHEK2, and PALB2.

Journal of Clinical Oncology, 41(9), 1703–1713.
<https://doi.org/10.1200/JCO.22.02239>

- Yu, M., Carter, K. T., Makar, K. W., Vickers, K., Ulrich, C. M., Schoen, R. E., ... & Grady, W. M. (2015). MethyLight droplet digital PCR for detection and absolute quantification of infrequently methylated alleles. *Epigenetics*, 10(9), 803–809. <https://doi.org/10.1080/15592294.2015.1072855>
- Zarean, E., Li, S., Southey, M. C., Dugue, P. A., et al. (2025). A review of the use of tumour DNA methylation for breast cancer subtyping and prediction of outcomes. *Clinical Epigenetics*, 17(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s13148-025-01922-z>.



BÖLÜM 7

Curcusone D'nin EGFR Üzerine Olası İnhibitör Etkisinin Moleküler Yerleştirme ve Moleküler Dinamik Analizleri ile İncelenmesi

Şerife Gökçe Çalışkan¹

1. Giriş

Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR), ErbB reseptör tirozin kinaz ailesinin dört üyesinden biridir (HER1/EGFR, HER2, HER3, HER4) ve hücre membranında yer alan transmembran bir proteindir (Yarden ve Pines, 2012). Ligand bağlanması ile gerçekleşen dimerizasyon ve oto-fosforilasyon, çeşitli aşağı akışlı sinyal yollarının (RAS-RAF-MEK-ERK, PI3K-AKT-mTOR, JAK-STAT) aktivasyonuna yol açar (Sigismund vd., 2018). Bu sinyaller hücre proliferasyonu, sağkalımı, farklılaşması ve migrasyonunu düzenler.

Kanserde EGFR'nin önemi, genellikle aşırı ekspresyon, gen amplifikasyonu veya aktivasyon mutasyonları ile ilişkilidir. Özellikle akciğer adenokarsinomu, baş-boyun skuamöz hücreli karsinomları ve glioblastoma multiforme gibi tümörlerde EGFR değişimleri sıkça raporlanmıştır (Paez vd., 2004, Gan vd., 2013). Klinik açıdan en çok çalışılan mutasyonlar arasında L858R (ekzon 21) ve T790M (ekzon 20) yer almakta olup, bunlar tirozin kinaz inhibitörlerine (TKI) karşı direncin başlıca sebeplerindendir (Santarpia vd., 2017).

EGFR'nin kanser tedavisinde “hedef” olarak seçilmesi, küçük molekül TKI'ların (gefitinib, erlotinib, afatinib, osimertinib) geliştirilmesine yol açmıştır (Morgillo vd., 2016). Ancak, hem primer hem de sekonder ilaç direnci bu tedavilerin etkinliğini sınırlandırmakta, yeni inhibitörlerin araştırılmasını güncel bir ihtiyaç haline getirmektedir.

Doğal ürünler, uzun yıllardır ilaç keşfinin temel kaynağı olmuş ve modern onkolojide kullanılan paklitaksel, kamptotekin türevleri, vinca alkaloidleri gibi kemoterapötiklerin geliştirilmesini sağlamıştır (Cragg ve Pezzuto, 2015). Bu bileşikler, yüksek yapısal çeşitlilikleri sayesinde klasik kütüphane taramalarında bulunması zor olan farmakofor özellikleri barındırır.

Son yıllarda yapılan taramalar, Euphorbiaceae, Rutaceae ve Apiaceae gibi bitki familyalarının diterpen, flavonoid ve alkaloid türü bileşikler bakımından zengin olduğu ve bunların da anti-kanser etkilerde umut verici adaylar sunduğu gösterilmiştir (Newman ve Cragg, 2007). Bu bağlamda, literatürde henüz

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, Aydın/TÜRKİYE, 0000-0001-5421-3472

yeterince incelenmemiş doğal ürünler, yeni kanser inhibitörleri için dikkat çekici bir potansiyel oluşturmaktadır.

Curcusone D, Euphorbiaceae familyasından *Jatropha curcas* bitkisinde tanımlanan bir diterpenoid bileşiktir (Yang vd., 2013). Molekülün yapısı, α,β -doymamış karbonil grupları ve diketonik iskeleti ile karakterizedir; bu özellikler molekülün biyomakromoleküllerle güçlü etkileşimler geliştirme potansiyelini artırır.

Son dönemde yapılan biyolojik çalışmalar, Curcusone D'nin BRAT1 (BRCA1-associated ATM activator 1) proteininin inhibitörü olarak işlev gördüğünü ortaya koymuştur (Cui vd., 2021). BRAT1, DNA hasar yanıtında kritik rol oynayan bir proteindir ve bu proteinin baskılanması tümör hücrelerinde DNA hasarına karşı duyarlılığı artırır. Dolayısıyla Curcusone D, kanser hücrelerinde proliferasyonu azaltan ve duyarlılığı artıran bir doğal ürün adaydır.

Curcusone D ile ilgili literatür, ağırlıklı olarak molekülün total sentezi, yapısal çeşitliliği ve BRAT1 proteinine yönelik biyolojik etkileri üzerine yoğunlaşmıştır (Cui vd., 2021; Souza vd., 2024). Özellikle, Cui ve çalışma arkadaşları (2021), Curcusone A–D'nin ilk total sentezini sunmanın yanı sıra, Curcusone D'nin BRAT1'i hedef alan ilk küçük molekül inhibitörü olduğunu göstermiştir. Ayrıca, *jatropha* diterpenlerinin yapısal çeşitliliğini geniş bir perspektifte inceleyen güncel bir derleme, Curcusone D'nin bu kimyasal sınıf içerisindeki yerini vurgulamaktadır (Souza vd., 2024). Bununla birlikte, EGFR gibi kanserin merkezî protein hedeflerine yönelik yerleştirme veya yapısal biyoinformatik çalışmalar bulunmamaktadır. Bu durum, molekülü biyoinformatik açıdan özgün bir araştırma konusu haline getirmektedir.

Bu çalışmanın amacı, Curcusone D'nin EGFR ile olası bağlanma etkileşimlerini moleküler yerleştirme yaklaşımıyla incelemek, elde edilen kompleksin dinamik stabilitesini moleküler dinamik (MD) simülasyonları ile değerlendirmektir. EGFR'nin kanser biyolojisindeki kritik rolü (Paez vd., 2004; Yarden ve Pines, 2012; Sigismund vd., 2018) ve Curcusone D'nin bu hedef üzerinde daha önce incelenmemiş olması (Yang vd., 2013; Cui vd., 2021), çalışmayı özgün kılmaktadır. Bu kapsamda: Curcusone D'nin bağlanma cebine yerleşim potansiyeli moleküler yerleştirme ile değerlendirilecek ve elde edilen kompleksin kararlılığı MD simülasyonları ile analiz edilecektir. Bu çok yönlü yaklaşım, doğal ürünlerin yeniden konumlandırılması (drug repurposing) çalışmalarına katkı sağlayabileceği gibi, EGFR'ye yönelik yeni inhibitör adaylarının keşfine de ışık tutabileceği düşünülmektedir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Moleküler Yerleştirme

Çalışmada incelenen ligand Curcusone D (CID: 175945) ve referans bileşik olarak kullanılan sisplatinin (CID: 5460033) 2D yapıları PubChem veri tabanından indirildi. Bileşiklerin optimizasyonu, B3LYP/6-31G(d,p) (Lee vd., 1988; Becke, 1993) yoğunluk fonksiyonel teorisi ile Gaussian09 yazılım paketi (Frisch vd., 2016) kullanılarak gerçekleştirildi. Bileşiklerin son hali pdb formatında kaydedildi. Daha sonra AutoDock Tools (ADT) kullanılarak polar hidrojenler eklendi, Gasteiger yükleri atandı ve döndürülebilir bağlar serbest bırakıldı. Hazırlanan ligand pdbqt formatına dönüştürüldü.

Hedef protein olarak EGFR tirozin kinaz domeni seçildi. Çalışmada, kristal yapısı erlotinib ile komplekslenmiş halde bulunan 1M17 kodlu yapı Protein Data Bank (PDB)'den indirildi. ADT ile yapılan hazırlık aşamasında su molekülleri uzaklaştırıldı, erlotinib yalnızca yeniden-yerleştirme validasyonu için saklandı, hidrojen atomları eklendi ve Kollman yükleri atandı. Son hali pdbqt formatında kaydedildi.

Moleküler yerleştirme çalışmaları AutoDock 4.2 yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi (Morris vd., 2009). Grid kutusu, 1M17 yapısında bulunan erlotinib inhibitörünün bağlanma konumuna göre tanımlandı. Izgara aralığı 0,375 Å olarak ayarlandı ve ızgara kutusu boyutu, ligandın bağlanma modlarının kapsamlı bir şekilde örneklenmesini sağlayacak kadar büyük ($80 \text{ Å} \times 80 \text{ Å} \times 80 \text{ Å}$) olacak şekilde seçildi. Yerleştirme işlemleri 200 koşu, 150 popülasyon büyüklüğü ve $2,5 \times 10^6$ maksimum enerji değerlendirmesi parametreleri ile gerçekleştirildi. En iyi yerleştirme pozu, tahmin edilen en düşük bağlanma afinitesine (kcal.mol^{-1}) göre seçildi. Bağlanma pozisyonları ve bağlanma afiniteleri de dahil olmak üzere çıktı yerleştirme sonuçları, BIOVIA Discovery Studio Görselleştirici kullanılarak görselleştirildi ve analiz edildi. Moleküller arası etkileşimler (hidrojen bağları, hidrofobik temaslar ve iyonik etkileşimler) tanımlandı ve tahmin edilen bağlanma modunun kalitesini değerlendirmek için analiz edildi. Metodun doğruluğu için, 1M17 yapısındaki erlotinib inhibitörü çıkarıldı ve yeniden-yerleştirme işlemi yapıldı. Elde edilen bağlanma modu, kristal yapıyla karşılaştırılarak RMSD değeri hesaplandı. $\text{RMSD} \leq 2.0 \text{ Å}$ doğruluk sınırı olarak kabul edildi (Onadara vd., 2007).

2.2. Moleküler Dinamik

Yerleştirme sonrası en uygun Curcusone D–EGFR kompleksi NAMD 2.14 yazılımı ile simüle edildi (Phillips vd., 2020). Bunun için Meshram Lab protokolü kullanıldı (Meshram vd., 2020; Meshram vd, 2021). VMD yazılımı sistem hazırlığı, topoloji oluşturma ve analizler için kullanıldı (Spivak vd., 2023). Kuvvetleri ve enerjileri hesaplamak için CHARM 22 parametrelili kuvvet alanı

(MacKerell vd., 1998; Mackerell vd., 2004) kullanıldı. Topoloji ve parametre dosyaları SwissParam web sunucusundan (Zoete vd., 2011) elde edildi.

Çalışmada, öncelikle ligand ve protein için gerekli olan topoloji ve parametre dosyalarının oluşturulması tamamlandıktan sonra, sistemin dinamik simülasyona hazır hale gelmesi için PDB–PSF dosya çifti elde edildi. Hazırlanan bileşik–protein kompleksi, simülasyon boyunca çözücü etkilerini doğru şekilde yansıtabilmek amacıyla her yönde yaklaşık 10 Å tampon mesafesi bırakacak şekilde kübik biçimli bir su kutusu içerisine yerleştirildi. Sistemin elektrostatik dengesini sağlamak ve biyolojik koşullara daha yakın bir ortam oluşturmak üzere gerekli sayıda Na^+ ve Cl^- iyonu eklenerek sistem nötralize edildi. Ardından, moleküler dinamik simülasyonlarının iş akışına uygun biçimde (Meshram vd., 2020; Meshram vd, 2021), sırasıyla enerji minimizasyonu, ısıdırma, dengeleme ve üretim aşamaları yürütüldü. Üretim simülasyonları, sonuçların güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini artırmak amacıyla üç bağımsız tekrar halinde, her biri 100 ns süreyle gerçekleştirildi. Bu aşamalardan elde edilen çıktılar, daha sonra yörünge tabanlı analizlerde kullanıldı ve sistemin dinamik davranışlarının ayrıntılı biçimde değerlendirilmesine olanak sağladı.

Üretim simülasyonlarının tamamlanmasının ardından elde edilen yörünge dosyaları, sistemin dinamik davranışlarını incelemek amacıyla yörünge tabanlı analizler gerçekleştirildi. Bu kapsamda, öncelikle protein omurgasının kök ortalama kare sapması (RMSD) ve kalıntı bazlı kök ortalama kare dalgalanması (RMSF) değerleri hesaplanarak kompleksin genel kararlılığı ve esnekliği değerlendirildi. Ayrıca ligandın bağlanma cebi içerisindeki konformasyonel değişimleri takip edebilmek için ligand RMSD analizleri gerçekleştirildi. Bunun yanı sıra, proteinin genel yapısal bütünlüğünü ve kompaktlık düzeyini incelemek amacıyla yarıçap momenti (radius of gyration, R_g) değerleri de hesaplandı. RMSD, RMSF ve R_g değerleri zaman ekseninde pikosaniye ölçeğinde çizilerek görselleştirildi. Ayrıca, bileşikten kaynaklanan hidrojen (H) bağları, VMD'nin "Hidrojen Bağı" eklentisi kullanılarak analiz edildi. Bileşikle oluşan H bağları vurgulandı. Sadece güçlü H bağlarını dahil etmek için alıcı ve verici atomlar arasında 3 Å mesafe ve 20° açı belirlendi.

Moleküler dinamik simülasyonlarından elde edilen yörüngelerden bağlanma serbest enerjisi değerlerinin hesaplanabilmesi amacıyla VMD yazılımında yer alan CaFE (Calculation of Free Energy) eklentisi kullanıldı (Liu ve Hou, 2016). Bu eklenti, MM/PBSA yöntemine dayalı bağlanma serbest enerjisi hesaplamalarını gerçekleştirmek üzere özel olarak hazırlanmış komut dosyaları (script setleri) ile çalışmaktadır. Hesaplama sürecinde, sistemin moleküler mekanik enerji bileşenleri (van der Waals ve elektrostatik etkileşimler) NAMD programı aracılığıyla elde edildi. Buna ek olarak, bağlanma serbest enerjisinin çözücüye bağlı bileşenlerinden polar solvasyon enerjisi, Adaptive Poisson–

Boltzmann Solver (APBS) yazılımı (Jurrus vd., 2018) kullanılarak hesaplandı. Böylece, protein–ligand kompleksine ait toplam bağlanma serbest enerjisi, moleküler mekanik ve solvatasyon katkılarının bütünleştirilmesiyle değerlendirildi.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Moleküler Yerleştirme Bulguları

Curcusione D bileşiğinin, referans bileşik olarak sisplatin ile birlikte, hedef protein EGFR ile moleküler yerleştirme analizleri AutoDock 4.2 kullanılarak gerçekleştirildi. Curcusione D ve sisplatin için hesaplanan bağlanma enerjisi değerleri sırasıyla $-8.14 \text{ kcal.mol}^{-1}$ ve $-3.56 \text{ kcal.mol}^{-1}$ olarak bulundu. Daha negatif bağlanma enerjisi değerleri daha yüksek bağlanma afinitesine karşılık geldiğinden, bu bulgular Curcusione D bileşiğinin EGFR ile şu anda klinik meme kanseri ilacı olarak kullanılan sisplatinden daha güçlü etkileşime girdiğini göstermektedir. Bağ uzunlukları, etkileşim çeşitleri ve etkileşimde bulunulan rezidü isimleri Tablo 1’de verilmiştir.

Curcusione D bileşiği, LYS721 ve THR766 amino asit rezidüleriyle konvansiyonel H bağı oluştururken, VAL702, ALA719, LEU820, LYS721, MET742, LEU764 ve CYS773 ile alkil etkileşmesi, PHE699 ile de π – alkil etkileşmesi yaptığı görülmüştür (Şekil 1). Sisplatin ise sadece LEU814 ile konvansiyonel H bağı oluşturmuş, bunu yanında ASP872 ile çekici yük, MET857, VAL852, PRO853 ile alkil ve TYR867 ile π –alkil etkileşmesi gerçekleştirmiştir (Şekil 2).

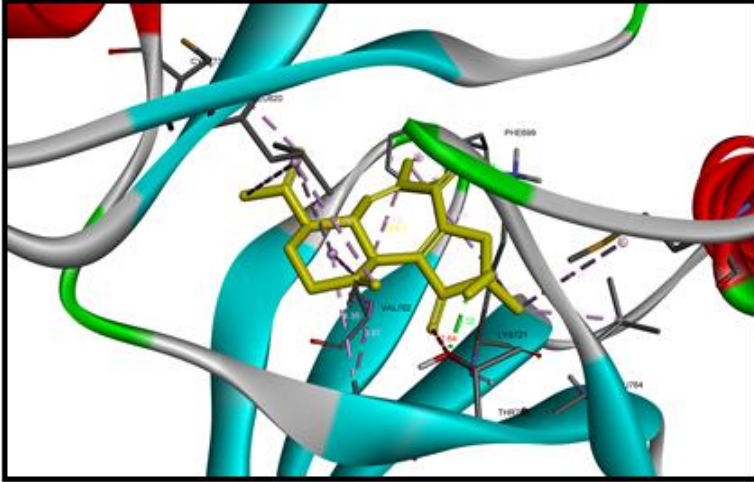
1M17 yapısından çıkarılan erlotinib inhibitörü ile yeniden-yerleştirme işlemi yapıldı. Elde edilen bağlanma modu, kristal yapıyla karşılaştırıldı ve RMSD değeri 1.06 Å olarak hesaplandı. Bu değerin, literatürde sınır değer olarak kabul edilen $\text{RMSD} \leq 2.0 \text{ Å}$ doğruluk sınırını sağladığı görüldü.

Tablo 1. Bileşikler ve hedef protein arasındaki etkileşimler, bağ uzunlukları, rezidü bilgileri.

Ligand	Rezidü	Bağ Uzunluğu (Å)	Etkileşim Çeşidi
	LYS721	1.843	Konvansiyonel H Bağı
	THR766	2.021	Konvansiyonel H Bağı
	VAL702	4.789	Alkil
	ALA719	4.352	Alkil
	ALA719	3.866	Alkil
	LEU820	4.588	Alkil
	LYS721	4.118	Alkil
	MET742	5.354	Alkil
	LEU764	3.920	Alkil
	LEU820	4.775	Alkil
	VAL702	4.748	Alkil
	LYS721	5.094	Alkil
	LEU820	5.395	Alkil
	CYS773	4.879	Alkil
	LEU820	4.367	Alkil
	PHE699	4.669	π -Alkil
	ASP872	2.310	Çekici yük
	ASP872	2.144	Çekici yük
Sisplatin	LEU814	2.273	Konvansiyonel H Bağı
	LEU814	2.291	Konvansiyonel H Bağı
	MET857	5.321	Alkil
	VAL852	4.873	Alkil
	PRO853	4.415	Alkil
	MET857	4.406	Alkil
	TYR867	5.124	π -Alkil



(a)

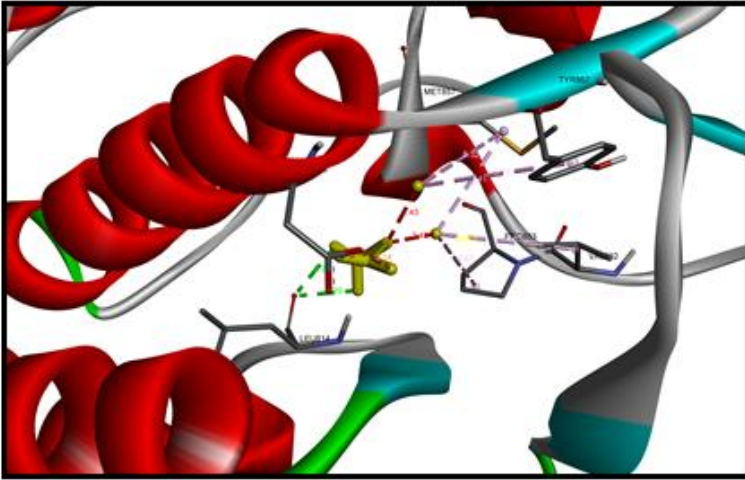


(b)

Şekil 1. a) 3 boyutlu diyagram b) Curcucione D bileşiğinin EGFR ile etkileşimleri.



(a)



(b)

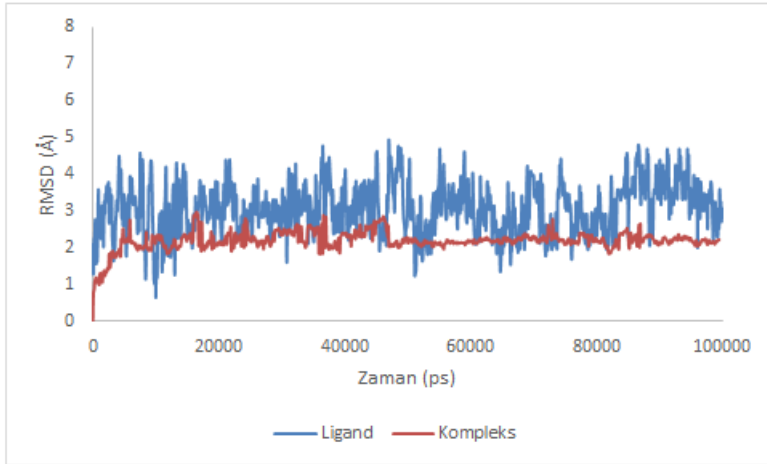
Şekil 2. a) 3 boyutlu diyagram b) Sisplatin bileşiğinin EGFR ile etkileşimleri.

3.2. Moleküler Dinamik Bulguları

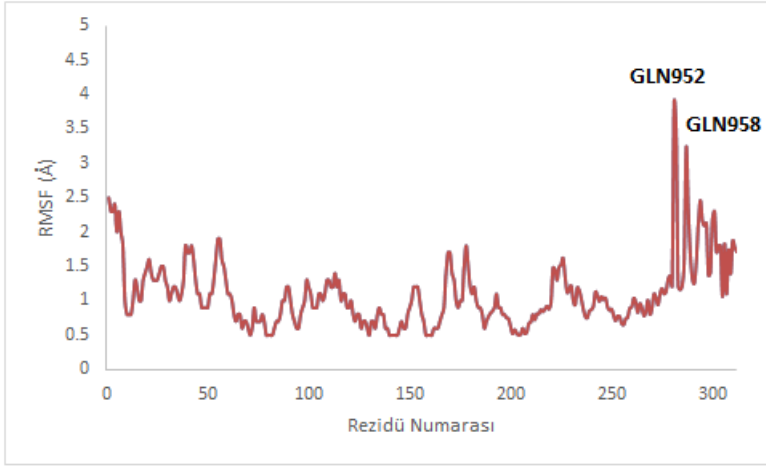
Curcucione D-EGFR kompleksi üzerine gerçekleştirilen moleküler dinamik (MD) simülasyonları, ligand-protein etkileşimlerinin zamana bağlı kararlılığını değerlendirmek amacıyla analiz edilmiştir. Simülasyon çıktıları, kompleksin yapısal bütünlüğünü ve dinamik davranışlarını anlamak için çeşitli parametreler (RMSD, RMSF, Rg, H bağları) açısından incelenmiştir.

Curcusone D–EGFR kompleksinin yapısal kararlılığını değerlendirmek amacıyla 100 ns süresince moleküler dinamik simülasyonu gerçekleştirilmiş ve RMSD değerleri incelenmiştir. Şekil 3'te görüldüğü üzere, kompleksin RMSD değerleri dengeleme aşamasının ardından yaklaşık 2 Å civarında sabitlenmiş ve simülasyon boyunca genel olarak korunan bir yapısal kararlılık sergilemiştir. Buna karşın, ligand RMSD değerleri 2–6 Å arasında dalgalanmalar göstermiştir. Bu durum, küçük moleküllerin bağlanma cebi içerisinde daha fazla konformasyonel değişim göstermesinden kaynaklanmaktadır. Kompleks RMSD'sinin düşük ve stabil seyretmesi, Curcusone D'nin EGFR bağlanma bölgesinde simülasyon boyunca kararlı bir şekilde konumlandığını ortaya koymaktadır ve yerleştirme sonuçlarını destekler niteliktedir.

RMSF analizi, EGFR omurgasının esnekliğini ve Curcusone D'nin bağlanma sürecine etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır. Şekil 4'te görüldüğü üzere, çoğu amino asit kalıntısı düşük RMSF değerleri sergilemiş, bu da kompleksin genel olarak kararlı bir yapıda kaldığını ortaya koymuştur. Yalnızca belirli loop bölgelerinde sınırlı dalgalanmalar gözlenmiş olup, bu durum proteinin doğal esnekliğine bağlanabilir. Elde edilen sonuçlar, Curcusone D'nin bağlanmasının EGFR'nin genel yapısında önemli bir destabilizasyona yol açmadığını göstermektedir.

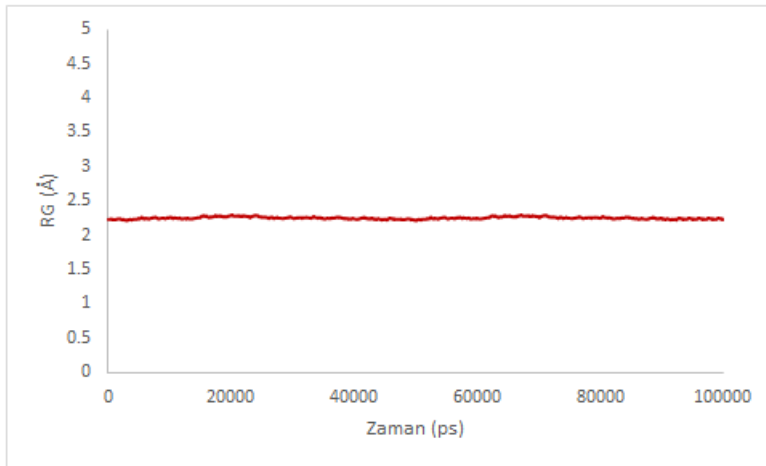


Şekil 3. Curcusone D – EGFR kompleksi için RMSD grafiği.



Şekil 4. Curcucione D – EGFR kompleksi için RMSF grafiği.

Curcucione D–EGFR kompleksinin kompaktlık derecesini ve yapısal bütünlüğünü değerlendirmek amacıyla Rg değerleri 100 ns boyunca izlenmiştir. Şekil 5’te görüldüğü üzere, Rg değerleri simülasyon süresi boyunca yaklaşık 2.2–2.3 Å civarında sabit kalmıştır. Bu sonuç, protein–ligand kompleksinin simülasyon boyunca yapısal bütünlüğünü koruduğunu ve herhangi bir büyük konformasyonel değişim göstermediğini ortaya koymaktadır. Rg değerlerinde gözlenen bu kararlılık, kompleksin kompakt bir yapı sergilediğini ve Curcucione D’nin EGFR bağlanma bölgesine yerleşmesinin proteinin genel yapısında bozulmaya yol açmadığını desteklemektedir.



Şekil 5. Curcucione D – EGFR kompleksi için Rg grafiği.

Moleküler dinamik simülasyonları süresince oluşan H bağları incelendiğinde, Curcusone D'nin özellikle hinge bölgesinde yer alan kritik rezidülerle etkileşimlerini koruduğu belirlenmiştir. Tablo 2'de özetlenen bulgular, GLN952, GLN958, GLY959 ve PRO951 gibi kalıntılarla kurulan H bağlarının kompleksin stabilitesine katkı sağladığını ortaya koymuştur. Ayrıca, hidrofobik bölgelerle kurulan van der Waals etkileşimleri de ligandın bağlanma cebinde tutulmasında önemli bir rol oynamıştır. Bu sonuçlar, yerleştirme aşamasında öngörülen bağlanma modelini destekler niteliktedir.

Tablo 2. H bağı bulguları

H Bağı Donör	H Bağı Akseptör	Oran
Ligand-Ana zincir	GLN952- Yan zincir	0.43%
Ligand-Yan zincir	GLN958- Yan zincir	1.06%
Ligand- Yan zincir	GLY959- Ana zincir	0.43%
Ligand- Yan zincir	GLN952- Yan zincir	1.28%
Ligand- Yan zincir	GLN958- Ana zincir	1.49%
Ligand- Yan zincir	GLN952- Ana zincir	0.43%
Ligand- Yan zincir	PRO951- Ana zincir	0.64%
Ligand- Yan zincir	ILE957- Ana zincir	0.21%
Ligand- Yan zincir	SER787- Yan zincir	0.43%
Ligand- Yan zincir	LEU955- Ana zincir	0.64%
Ligand- Yan zincir	LEU955- Yan zincir	0.21%
Ligand- Yan zincir	SER787- Ana zincir	0.21%
GLN958- Yan zincir	Ligand- Yan zincir	0.64%
GLN952- Yan zincir	Ligand- Yan zincir	2.34%
GLN958- Yan zincir	Ligand- Ana zincir	0.21%
PRO951- Yan zincir	Ligand- Yan zincir	1.06%
GLN952- Yan zincir	Ligand- Ana zincir	0.43%
GLN958- Ana zincir	Ligand- Yan zincir	0.21%
SER787- Yan zincir	Ligand- Yan zincir	0.21%
GLN952- Ana zincir	Ligand- Yan zincir	0.21%
ILE957- Yan zincir	Ligand- Yan zincir	0.21%

MM/PBSA yöntemi ile hesaplanan bağlanma serbest enerjisi değerleri, Curcusone D-EGFR kompleksinin güçlü ve stabil etkileşimlere sahip olduğunu göstermiştir. Toplam serbest enerji -9.09 ± 3.19 kcal/mol olarak bulunmuş, bu değere özellikle van der Waals (-25.00 ± 2.72 kcal/mol) ve elektrostatik etkileşimlerin (-6.61 ± 0.22 kcal/mol) önemli katkılar sağladığı görülmüştür. Öte yandan, polar çözücü katkıları pozitif değerlere sahipken, nonpolar etkileşimlerin bağlanma enerjisini daha elverişli hale getirdiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, Curcusone D'nin EGFR'nin bağlanma cebine yüksek kararlılık ile yerleştiğini ve dinamik süreç boyunca kritik etkileşimlerini koruduğunu doğrulamaktadır.

Tablo 3. MM/PBSA serbest enerji analizi bulguları

Enerji çeşidi	Enerji Değeri (kcal/mol)
Elektrostatik Etkileşme	-6.61±0.22
Vander Waals Kuvveti	-25.00±2.72
Poisson Boltzmann	26.41±7.27
Yüzey Alanı	-5.63±0.06
Gaz Fazı Enerjileri	-31.15±3.92
Solvasyon Serbest Enerjisi	22.01±6.18
Polar Etkileşmeler	20.05±3.64
Nonpolar Etkileşmeler	-29.38±2.11
Toplam Serbest Enerji	-9.09±3.19

Tüm bu veriler birlikte değerlendirildiğinde, Curcusone D'nin EGFR'nin bağlanma cebinde kararlı bir şekilde konumlandığı ve dinamik süreç boyunca kritik etkileşimlerini koruduğu görülmektedir.

Sonuç

Bu çalışmada doğal kaynaklı bir diterpenoid olan Curcusone D'nin EGFR tirozin kinaz domenine bağlanma potansiyeli *in siliko* yöntemlerle kapsamlı olarak değerlendirilmiştir. Moleküler yerleştirme sonuçları, Curcusone D'nin EGFR'ye karşı sisplatine kıyasla çok daha elverişli bağlanma serbest enerjisi sergilediğini ve bağlanma cebinde kritik rezidülerle güçlü etkileşimler kurduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgular, Curcusone D'nin EGFR inhibisyonu açısından umut vadeden bir aday olduğunu desteklemektedir.

MD simülasyonları ile elde edilen RMSD, RMSF ve Rg analizleri, kompleksin 100 ns boyunca kararlı bir konformasyonda kaldığını, proteinin genel yapısında büyük bir destabilizasyon meydana gelmediğini ve ligandın bağlanma bölgesinde uyumlu bir şekilde konumlandığını göstermiştir. H bağı ve hidrofobik etkileşim analizleri, ligandın aktif bölgede stabilitesini sürdürdüğünü doğrulamıştır. Ayrıca MM/PBSA serbest enerji hesaplamaları, Curcusone D-EGFR kompleksinin enerjik açıdan elverişli ve güçlü bağlanma etkileşimlerine sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Tüm bu bulgular bir arada değerlendirildiğinde, Curcusone D'nin EGFR inhibisyonu için potansiyel bir aday bileşik olduğu ve gelecekte yapılacak biyolojik doğrulama çalışmalarıyla klinik açıdan değerlendirilebileceği sonucuna ulaşılmıştır.

KAYNAKLAR

- Becke, A. D. (1993). Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *Journal of Chemical Physics*, 98(7), 5648-5652.
- Cragg, G. M., & Pezzuto, J. M. (2016). Natural Products as a Vital Source for the Discovery of Cancer Chemotherapeutic and Chemopreventive Agents. *Medical principles and practice : international journal of the Kuwait University, Health Science Centre*, 25 Suppl 2(Suppl 2), 41–59. <https://doi.org/10.1159/000443404>
- Cui, C., Dwyer, B. G., Liu, C., Abegg, D., Cai, Z. J., Hoch, D. G., ... Dai, M. (2021). Total Synthesis and Target Identification of the Curcusone Diterpenes. *Journal of the American Chemical Society*, 143(11), 4379–4386. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c00557>
- Daina A, Michielin O, Zoete V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7, 42717.
- Frisch, M.J., Trucks, G.W., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E., Robb, M.A., Cheeseman, J.R., ... Fox, D.J. (2016) Gaussian 16, Revision B.01. Gaussian, Inc., Wallingford.
- Gan, H. K., Cvrljevic, A. N., Johns, T. G. (2013). The epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII): where wild things are altered. *The FEBS Journal*, 280(21), 5350-5370. <https://doi.org/10.1111/febs.12393>
- Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E., & Hutchison, G. R. (2012). Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of cheminformatics*, 4(1), 17. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17>
- Jurrus, E. Engel, D., Star, K., Monson, K., Brandi, J., Felberg, L.E.,...Baker, N.A. (2018). Improvements to the APBS biomolecular solvation software suite. *Protein Science*, 27 (1), 112–128.
- Lee, C., Yang, W., Parr, R. G. (1988). Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Physical Review B*, 37(2), 785–789. <https://doi.org/10.1103/physrevb.37.785>
- Liu, H., Hou, T. (2016). CaFE: a tool for binding affinity prediction using end-point free energy methods. *Bioinformatics*, 32 (14), 2216–2218.
- MacKerell, A. D., Bashford, D., Bellott, M., Dunbrack, R. L., Evanseck, J. D., Field, M. J., ... Karplus, M. (1998). All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins. *Journal of Physical Chemistry B*, 102(18), 3586–3616.

- Mackerell, A. D., Jr, Feig, M., Brooks 3rd, C. L. (2004). Extending the treatment of backbone energetics in protein force fields: limitations of gas-phase quantum mechanics in reproducing protein conformational distributions in molecular dynamics simulations. *Journal of Computational Chemistry*, 25 (11), 1400–1415.
- Meshram, R. J., Bagul, K. T., Aouti, S. U., Shirsath, A. M., Duggal, H., Gacche, R. N. (2021). Modeling and simulation study to identify threonine synthase as possible drug target in *Leishmania major*. *Molecular Diversity*, 25(3), 1679–1700.
- Meshram, R. J., Bagul, K. T., Pawnikar, S. P., Barage, S. H., Kolte, B. S., Gacche, R. N. (2020). Known compounds and new lessons: structural and electronic basis of flavonoid-based bioactivities. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 38(4), 1168–1184.
- Morgillo, F., Della Corte, C. M., Fasano, M., & Ciardiello, F. (2016). Mechanisms of resistance to EGFR-targeted drugs: lung cancer. *ESMO open*, 1(3), e000060. <https://doi.org/10.1136/esmoopen-2016-000060>
- Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry*, 30(16), 2785–2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>
- Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of natural products*, 70(3), 461–477. <https://doi.org/10.1021/np068054v>
- Onodera, K., Satou, K., Hirota, H. (2007). Evaluations of molecular docking programs for virtual screening. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 47(4), 1609–1618.
- Paez, J. G., Jänne, P. A., Lee, J. C., Tracy, S., Greulich, H., Gabriel, S., Herman, P., ... Meyerson, M. (2004). EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science (New York, N.Y.)*, 304(5676), 1497–1500. <https://doi.org/10.1126/science.1099314>
- Phillips, J. C., Hardy, D. J., Maia, J. D. C., Stone, J. E., Ribeiro, J. V., Bernardi, R. C., ... Tajkhorshid, E. (2020). Scalable molecular dynamics on CPU and GPU architectures with NAMD. *Journal of Chemical Physics*, 153(4), 044130.
- Santarpia, M., Liguori, A., Karachaliou, N., Gonzalez-Cao, M., Daffinà, M. G., D'Aveni, A., ... Rosell, R. (2017). Osimertinib in the treatment of non-small-cell lung cancer: design, development and place in therapy. *Lung Cancer (Auckland, N.Z.)*, 8, 109–125. <https://doi.org/10.2147/LC.TT.S119644>

- Sigismund, S., Avanzato, D., & Lanzetti, L. (2018). Emerging functions of the EGFR in cancer. *Molecular oncology*, 12(1), 3–20. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12155>
- Souza, T. A. de, Barbosa, A. T., Oliveira, F. S., Oliveira, T. B., Silva, G. H., & Rodrigues, E. (2024). *Jatropha* diterpenes: An updated review concerning their structural diversity, therapeutic performance, and future pharmaceutical applications. *Pharmaceuticals*, 17(10), 1399.
- Spivak, M., Stone, J. E., Ribeiro, J., Saam, J., Freddolino, L., Bernardi, R. C., Tajkhorshid, E. (2023). VMD as a Platform for Interactive Small Molecule Preparation and Visualization in Quantum and Classical Simulations. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 63(15), 4664–4678.
- Yang, Y., Liu, J., Li, X. et al. (2013). New terpenoids from the roots of *Jatropha curcas*. *Chin. Sci. Bull.* 58, 1115–1119. <https://doi.org/10.1007/s11434-012-5655-4>
- Yarden, Y., & Pines, G. (2012). The ERBB network: at last, cancer therapy meets systems biology. *Nature reviews. Cancer*, 12(8), 553–563. <https://doi.org/10.1038/nrc3309>
- Zoete, V., Cuendet, M. A., Grosdidier, A., Michielin, O. (2011). SwissParam: a fast force field generation tool for small organic molecules. *Journal of Computational Chemistry*, 32 (11), 2359–2368.