

Tıbbi Biyokimya: Teori, Metodoloji ve Uygulama

**Editör
Doç. Dr. Bülent Işık**

Tıbbi Biyokimya:
Teori, Metodoloji ve Uygulama

Editörler
Doç. Dr. Bülent Işık

İmtiyaz Sahibi
Platanus Publishing®

Editör
Doç. Dr. Bülent Işık

Kapak & Mizanpaj & Sosyal Medya
Platanus Yayın Grubu

Birinci Basım
Ekim, 2025

Yayımcı Sertifika No
45813

ISBN
978-625-8513-00-4

©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
Antibiyotik Direncine Karşı İn Siliko Yaklaşımlar: Moleküler Docking ve Dinamik Simülasyonların Teorisi ve Uygulaması	
Kader Şahin	
BÖLÜM 2.....	25
Moleküler Onkolojide Rasyonel İlaç Tasarımı: Sanal Tarama ve Qsar Temelli Hit-To-Lead Optimizasyonu	
Kader Şahin	
BÖLÜM 3.....	47
Asendan Aort Anevrizmasında miRNA'ların Rolü	
Fatma Hande Karpuzoğlu	
BÖLÜM 4.....	67
Takviye Edici Gıdalarda Papain Enziminin Kullanımı	
Handan Mert	
BÖLÜM 5.....	73
Prolil Oligopeptidaz Enziminin Takviye Edici Gıdalarda Kullanımı	
Handan Mert	



BÖLÜM 1

Antibiyotik Direncine Karşı İn Siliko Yaklaşımlar: Moleküler Docking ve Dinamik Simülasyonların Teorisi ve Uygulaması

Kader Şahin¹

1. Giriş

Antibiyotikler, bakteriyel enfeksiyonların kontrol altına alınmasında devrim yaratarak modern tıbbın gelişiminde kritik rol oynamış farmakolojik ajanlardır. Bu ilaçlar sayesinde daha önce ölümcül seyreden pek çok enfeksiyon başarıyla tedavi edilebilmiş, cerrahi operasyonlar, organ nakilleri, kemoterapi gibi yüksek enfeksiyon riski taşıyan girişimler güvenli hale gelmiştir (Hibbert vd., 2024). Ancak son yıllarda, antibiyotiklerin yaygın, bilinçsiz ve uygunsuz kullanımı sonucunda ortaya çıkan antibiyotik direnci, dünya genelinde giderek derinleşen bir halk sağlığı sorununa dönüşmüştür. Antibiyotik direnci, bakterilerin antibiyotiklerin etkisini etkisiz hale getiren veya bu etkilere karşı koyan çeşitli genetik ve biyokimyasal adaptasyonlar geliştirerek hayatta kalma ve çoğalma yetisi kazanması durumudur.

Bu direnç mekanizmaları; antibiyotiğin hedefe bağlanmasını engelleme, antibiyotiği parçalama, hücre dışına pompalama ya da hedef bölgeyi modifiye etme gibi çeşitli yollarla gerçekleşebilir. Sonuç olarak, daha önce kolaylıkla tedavi edilebilen enfeksiyonlar dirençli hale gelirken, klinik yönetim giderek karmaşıklaşmakta ve başarısız tedavi oranları artmaktadır (Elshobary vd. 2025).

Bu sorunun altında yatan temel nedenlerden biri, antibiyotiklerin yanlış endikasyonlarla ve aşırı miktarda reçete edilmesidir. Viral enfeksiyonlar gibi antibiyotik tedavisinden fayda görmeyen hastalıklarda bile antibiyotik kullanımı oldukça yaygındır. Hastaların doktor önerisi olmadan reçetesiz antibiyotik temin etmesi, tedavi süresini tamamlamadan ilaç kullanımını bırakması veya düşük dozlarda uzun süreli antibiyotik maruziyeti, bakterilerde direnç gelişimini hızlandırmaktadır (Malik & Mundra, 2023).

Benzer şekilde, tarım ve hayvancılıkta antibiyotiklerin büyüme destekleyici ya da koruyucu amaçlarla kontrolsüz biçimde kullanılması, çevresel direnç yükünü artırmakta ve dirençli bakteri türlerinin besin zinciri aracılığıyla insanlara geçişine neden olmaktadır. Ayrıca hastane ortamlarında enfeksiyon kontrol önlemlerinin yetersiz olması, el hijyenine uyulmaması ve uygun izolasyon

¹ Doç. Dr., Bandırma Onyedi Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya ABD, 0000-0002-9056-9000

stratejilerinin uygulanmaması, dirençli bakterilerin hızla yayılmasına olanak tanımaktadır (Zalewska, Błażejewska, Czapko, & Popowska, 2021).

Mikrobiyolojik düzeyde değerlendirildiğinde, bakterilerin direnç kazanması yalnızca bireysel mutasyonlarla sınırlı değildir. Horizontal gen transferi (konjugasyon, transdüksiyon, transformasyon gibi mekanizmalarla) sayesinde bir bakteride gelişen direnç özelliği hızla diğer türlere geçebilir. Bu durum, direnç genlerinin hem topluluk içinde hem de farklı ekosistemlerde süratle yayılmasına yol açmaktadır. Dirençli enfeksiyonlar daha uzun süren tedavi süreçleri, ikincil komplikasyonlar, hastanede yatış süresinin uzaması ve mortalite oranlarında artış gibi ciddi sonuçlara yol açmaktadır (Partridge, Kwong, Firth, & Jensen, 2018). Ek olarak, etkili tedavi seçeneklerinin azalması, sağlık hizmetlerinde maliyetlerin yükselmesine ve ekonomik sürdürülebilirliğin tehdit altına girmesine neden olmaktadır. Antibiyotiklerin etkinliğini kaybetmesi, sadece bireylerin sağlığını değil, aynı zamanda toplumun genel bağışıklığını, kamu sağlığı politikalarını ve sağlık sistemlerinin işleyişini doğrudan etkilemektedir (Pulingam vd., 2022).

Antibiyotik direnci, günümüz sağlık sistemlerinin karşı karşıya olduğu en büyük tehditlerden biridir (Murray vd. 2022). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, antibiyotik direnci her yıl milyonlarca ölümün doğrudan veya dolaylı nedeni olmakta, mevcut antibakteriyel ajanların etkinliği hızla azalmaktadır (Naghavi vd., 2024). Bu küresel kriz, yeni antibakteriyel ajanlara olan ihtiyacı her zamankinden daha acil hale getirmiştir. Ancak klasik ilaç keşif süreçleri yüksek maliyet, uzun süre ve düşük başarı oranları gibi önemli sınırlılıklar taşımaktadır (Wouters, McKee & Luyten, 2020). Bu bağlamda, bilgisayar destekli ilaç tasarımı ve özellikle in siliko moleküler docking ile moleküler dinamik simülasyonları, ilaç keşif süreçlerinde devrim niteliğinde gelişmeler sunmaktadır (Sahin, Zengin Kurt, Sonmez & Durdagi, 2020).

Bu kitap bölümü, antibiyotik direnci ile mücadelede in siliko tekniklerin sunduğu olanakları teorik temelleriyle birlikte değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Moleküler etkileşim teorilerinden yola çıkılarak, moleküler docking ve simülasyon yaklaşımlarının dirençli bakteri türlerinde ilaç hedefi belirleme, bağlanma afinitesi hesaplama ve potansiyel terapötik ajanları taramadaki yeri açıklanacaktır. Ayrıca bu yöntemlerin klinik uygulamalara entegrasyon potansiyeli, güncel bir örnekle desteklenerek aktarılacaktır.

2. Moleküler Etkileşim Teorisine Giriş

İlaç tasarımının temel amacı, bir molekülün spesifik biyolojik hedefiyle etkileşime geçerek istenilen farmakolojik etkiyi sağlamaktır. Bu süreçte, ilacın hedef protein veya biyomolekül üzerindeki bağlanma bölgesiyle kurduğu özgül ve güçlü etkileşimler kritik bir rol oynar. Etkileşimin özgüllüğü ve kuvveti, ilacın

etkinliği, güvenilirliği ve yan etki profilini belirler (Wu, Karapetyan, Schloss, Vadgama & Wu, 2023).

Bu bağlanma olayının altında yatan mekanizmalar, moleküler düzeydeki kimyasal ve fiziksel etkileşimlerle açıklanır. Hidrojen bağları, iyonik etkileşimler, van der Waals kuvvetleri ve hidrofobik etkileşimler gibi moleküler kuvvetler, ilaç ve hedefi arasında denge sağlayan temel unsurlardır. Aynı zamanda, hedef molekülün yapısal özellikleri ve dinamik davranışı, ilacın bağlanma şekli ve etkinliği üzerinde belirleyici olabilir (Drusin vd., 2024).

İlaç ve hedef arasındaki bu karmaşık ilişki, sadece moleküllerin birbirine uygun geometrik yapılarıyla değil, aynı zamanda moleküllerin esneklikleri ve çevresel koşullarla da şekillenir. Dolayısıyla, ilaç tasarımında biyolojik hedefin yapısal esnekliği ve konformasyonel değişimleri göz önünde bulundurmak, etkili ve seçici moleküllerin geliştirilmesinde önemli avantaj sağlar.

Bu temel prensipler ışığında, moleküler etkileşim modelleri ve teorileri, ilaç-tipi bağlanma süreçlerinin anlaşılması ve simülasyonu için kullanılır. Böylece, hedefe uygun moleküllerin tasarımı ve optimize edilmesi mümkün olur. Bu etkileşimlerin mekanistik temeli ise moleküler etkileşim teorileriyle açıklanır. En yaygın iki model; “Lock and Key” (kilit-anahtar) ve “Induced Fit” (uyarlanmış uyum) modelleridir.

2.1 Lock and Key Modeli

Emil Fischer tarafından 1894 yılında ortaya atılan bu model, ilaç tasarımı ve enzim-substrat etkileşimlerinin anlaşılmasında önemli bir teorik başlangıç noktasıdır. “Kilit ve anahtar” (Lock and Key) modeli olarak bilinen bu yaklaşım, bir ligand molekülünün (örneğin bir ilaç ya da substrat), hedef proteinin bağlanma bölgesiyle yapısal olarak tamamen uyumlu olması gerektiğini öne sürer. Yani bağlanma, iki parça yapbozun birbirine tam oturması gibi, yüksek düzeyde geometrik ve sterik tamamlayıcılık gerektirir.

Bu modele göre, hedef proteinin bağlanma bölgesi önceden şekillenmiş ve sabit bir yapıdadır. Bu nedenle, yalnızca bu bölgenin üç boyutlu yapısıyla fiziksel olarak uyum sağlayabilen moleküller etkin bir şekilde bağlanabilir. Yapısal esneklik ya da konformasyonel değişiklikler bu modelde dikkate alınmaz. Bu yaklaşım, özellikle erken dönem yapısal biyoloji çalışmalarında ve düşük hesaplama maliyeti gerektiren rijit docking (rigid docking) analizlerinde teorik temel olarak kullanılmıştır.

Lock and Key modeli, günümüzde moleküler tanımanın en basit açıklamalarından biri olarak kabul edilmekle birlikte, biyolojik sistemlerin dinamik doğasını yeterince yansıtmadığı için sınırlı bir perspektif sunar. Ancak hedef bağlanma bölgesinin yapısal esnekliğinin düşük olduğu veya ligantın

oldukça spesifik olduğu durumlarda hâlâ geçerli bir yaklaşım olabilir. Ayrıca, büyük ligand kütüphanelerinin tarandığı sanal taramalarda (virtual screening) ön eleme stratejisi olarak da tercih edilebilmektedir. (Mohanty & Mohanty, 2023).

2.2 Induced Fit Modeli

Daniel Koshland tarafından 1958 yılında geliştirilen bu model, biyolojik makromoleküllerle yapılan etkileşimlerin dinamik doğasını anlamak için önemli bir paradigma değişimi sunmuştur. "Induced Fit" (Uyarlanmış Uyum) modeli, hedef proteinin bağlanma bölgesinin sabit bir yapıya sahip olmadığını; tam tersine, ligand ile etkileşim sürecinde konformasyonel değişiklikler geçirebileceğini savunur. Bu modele göre, ligand proteine yaklaşmaya başladığında, bağlanma bölgesindeki amino asit kalıntıları konformasyonel olarak yeniden düzenlenir ve böylece ligand ile daha uygun bir bağlanma yüzeyi oluşur. Bu karşılıklı yapısal uyum, ligand–reseptör kompleksinin stabilitesini ve özgüllüğünü artırır (Maus, Hinze, Hammerschmidt, Schirmeister, & Basché, 2023).

Induced Fit modeli, protein yapılarının esnekliğini dikkate alarak, moleküler tanıma süreçlerinin daha gerçekçi ve biyolojik olarak geçerli bir açıklamasını sunar. Özellikle enzim-substrat bağlanmaları, hormon-reseptör etkileşimleri ve protein-protein etkileşimleri gibi birçok biyolojik süreçte, bu modelin geçerliliği çeşitli yapısal biyoloji ve spektroskopi çalışmalarıyla desteklenmiştir. Kristalografik ve NMR verileri, pek çok enzimin substratla temas ettikten sonra aktif bölgesinde belirgin yapısal değişiklikler gösterdiğini ortaya koymuştur (Maus, Hinze, Hammerschmidt, Schirmeister, & Basché, 2023).

Bu yaklaşım, günümüzde moleküler dinamik (MD) simülasyonları ve esnek docking algoritmaları gibi ileri düzey hesaplamalı yöntemlerin teorik temelini oluşturur. MD simülasyonları, protein ve ligandın zaman içinde birbirine nasıl uyum sağladığını, konformasyonel esnekliklerinin nasıl evrildiğini ve bağlanma sürecinin hangi ara durumlardan geçtiğini detaylı bir şekilde analiz edebilir. Bu sayede, ilaç tasarımı daha etkili ve özgül moleküllerin geliştirilmesi mümkün hale gelir.

Gerçek biyolojik sistemlerde proteinler genellikle statik değil, oldukça dinamik yapılardır. Bu nedenle, Induced Fit modeli, bağlanma olaylarının fizyolojik ortamda nasıl gerçekleştiğine dair daha doğru bir temsil sunar. Özellikle büyük veya çok halkalı ligandların hedefe bağlanırken proteinin şeklini değiştirmesi, bu modelin geçerliliğini güçlendirmektedir. (Guterres & Im, 2023).

2.3 Skorlama Fonksiyonları ve Enerji Temelli Yaklaşım

Ligand-hedef etkileşimleri, ilaç tasarımı ve biyomoleküler araştırmalarda oldukça kritik bir rol oynar. Bu etkileşimlerin gücü ve kararlılığı, bağlanma

afinitesi olarak adlandırılan nicel bir değerle değerlendirilir. Bağlanma afinitesi, ligandın hedef protein ya da biyomoleköl üzerindeki bağlanma bölgesine olan tutunma gücünü yansıtır ve genellikle enerji cinsinden ifade edilir. Yüksek afiniteli ligandlar, hedeflerine daha güçlü ve kalıcı şekilde bağlanarak biyolojik aktivite gösterme potansiyeline sahiptir.

Bağlanma afinitelerini hesaplamak için skorlama fonksiyonları kullanılır. Bu fonksiyonlar, ligand ve hedef arasındaki farklı etkileşim türlerini dikkate alarak toplam bağlanma enerjisini tahmin eder. Skorlama fonksiyonlarının temel bileşenleri arasında hidrofobik etkileşimler, hidrojen bağları, elektrostatik kuvvetler ve Van der Waals kuvvetleri bulunur. Hidrofobik etkileşimler, ligand ve protein yüzeyindeki su itici bölgeler arasındaki çekimle bağlanmayı desteklerken, hidrojen bağları spesifik ve yönlü bağlanma sağlar. Elektrostatik kuvvetler ise yüklü veya polar gruplar arasındaki çekim veya itme etkilerini hesaba katar. Van der Waals kuvvetleri ise moleküller arasındaki kısa mesafeli zayıf çekim kuvvetleridir ve bağlanmanın stabilitesinde önemli rol oynar.

Bu enerji temelli değerlendirme, moleküler docking analizlerinin temel dayanağını oluşturur. Docking yöntemleri, ligandların hedef üzerindeki olası bağlanma konumlarını ve konformasyonlarını tahmin ederken, skorlama fonksiyonları her bir konformasyonun bağlanma potansiyelini karşılaştırarak en uygun pozisyonları belirler. Böylece, potansiyel ilaç adaylarının hedef proteinle en iyi şekilde etkileşime girebileceği yapılar öngörölür. Bu sayede deneysel çalışmalara yön verilir ve zaman ile maliyetten tasarruf sağlanır. (Shen vd., 2023).

2.4 Farmakofor Kavramı

Farmakofor, bir molekölün biyolojik aktivite göstermesi için gerekli olan fonksiyonel grupların ve bu grupların üç boyutlu uzaydaki spesifik düzenlenişinin soyutlanmış temsilidir. Yani, farmakofor; hidrojen bağ donörleri ve alıcıları, aromatik halkalar, hidrofobik bölgeler, iyonik gruplar gibi moleküler özelliklerin ve bunların uzaysal konumlarının birleşimi olarak tanımlanabilir. Bu yapı, ligandların hedef proteinle etkileşimini belirleyen temel özelliklerin tanımlanması ve karşılaştırılması için kritik bir araçtır (Muhammed & Akı-Yalçın, 2021).

Farmakofor modelleri, özellikle ligand tabanlı ilaç tasarımı ve farmakofor tabanlı sanal tarama yöntemlerinde yaygın şekilde kullanılır. Docking analizinden önce, bilinen aktif ligandların farmakofor özellikleri çıkarılarak, bu özelliklere uygun yeni bileşikler büyük kimyasal kütüphanelerden hızlıca taranabilir. Böylece, hedefe özgül bağlanma potansiyeline sahip moleküllerin keşfi hızlanır ve maliyetler düşer (Şahin, Orhan, Avşar & Durdağı, 2021)

Multidrug-resistant (MDR) yani çoklu ilaç dirençli bakterilerin ortaya çıkışı, günümüzde antibiyotik tedavisinde ciddi bir zorluk oluşturmıştır. Bu nedenle, yeni nesil antibiyotiklerin geliştirilmesinde farmakofor modelleme, direnç mekanizmalarını aşan ve bakteri hedeflerine özgül etki gösteren moleküllerin tasarımında önemli bir role sahiptir. Örneğin, belirli farmakofor özelliklerine sahip moleküller, bakteriyel enzimlerin dirençli varyantlarıyla daha güçlü ve seçici bağlanabilir, bu sayede etkinliği artırılabilir.

Ayrıca, farmakofor bazlı yaklaşımlar, yapısal bilgisi sınırlı olan hedeflerde bile, aktif ligandların ortak özelliklerini kullanarak yeni inhibitörlerin keşfine olanak tanır. Bu, özellikle hızla mutasyona uğrayan veya yapısal esnekliği yüksek bakteriyel proteinlerde avantaj sağlar.

Sonuç olarak, farmakofor modelleri; biyolojik aktivitenin moleküler temelini anlamada, yeni ilaç adaylarının hızlı ve etkili taranmasında, multidrug dirençli bakterilere karşı yeni terapötiklerin geliştirilmesinde vazgeçilmez bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. (Katlaria vd., 2024)

3. Moleküler Docking Yaklaşımları

Moleküler docking, küçük moleküllerin (ligandların) hedef proteinlerin spesifik bağlanma bölgelerine nasıl ve ne derece güçlü bağlanabileceğini bilgisayar ortamında tahmin etmeye yarayan hesaplamalı bir yöntemdir. Bu teknik, ilaç keşif süreçlerinde kritik bir rol oynar çünkü potansiyel ilaç adaylarının kimyasal yapılarına ve konformasyonlarına göre hedef proteine bağlanma yeteneklerini hızlı ve ekonomik bir şekilde değerlendirme imkânı sağlar. Özellikle deneysel testlerin yüksek maliyetli ve zaman alıcı olduğu durumlarda, docking çalışmaları laboratuvar öncesi aşamada etkili bir ön eleme stratejisi olarak kullanılır (Ameji, Uzairu, & Shallangwa, 2023).

Docking algoritmaları, ligandın esnekliğini göz önünde bulundurarak farklı konformasyonlarını üretir ve aynı zamanda hedef proteinin bağlanma bölgesindeki amino asitlerle oluşturabileceği hidrojen bağları, van der Waals kuvvetleri, iyonik etkileşimler ve hidrofobik temaslar gibi çeşitli moleküler etkileşimleri hesaplar. Bu bilgiler ışığında, ligandın protein üzerinde en stabil ve özgül bağlanma pozisyonları (pozları) belirlenir. Her poz için bir bağlanma skoru veya enerji değeri hesaplanır; böylece en uygun bağlanma konformasyonu seçilir (Ejalonibu vd., 2021)

Bu sayede, büyük kimyasal kütüphanelerde bulunan binlerce ilaç adayı molekül, hedef proteinle potansiyel etkileşimlerine göre önceden taranabilir. Sonuçta, deneysel doğrulamaya alınacak molekül sayısı azaltılır ve araştırma süreci hızlanır. Ayrıca docking sonuçları, ilaç moleküllerinin yapısal optimizasyonu için yol gösterici olabilir; bağlanma bölgesindeki kritik amino

asitlerle etkileşimleri artıracak veya yan etkileri azaltacak yapısal değişiklikler bu analizlerle öngörülebilir (Sahin, Zengin Kurt, Sonmez & Durdagi, 2020).

Günümüzde, moleküler docking hem rijit (rigid) hem de esnek (flexible) docking yöntemleriyle uygulanmakta, bazı ileri algoritmalar bağlanma bölgesinin esnekliğini de hesaba katarak daha gerçekçi modeller üretmektedir. Böylece ilaç tasarımında başarı şansı ve verimlilik önemli ölçüde artmaktadır. (Verma vd., 2022).

3.1 Rigid ve Flexible Docking

Docking süreci hem ligandın hem de hedef proteinin konformasyonel esnekliğini dikkate alıp almamasına göre iki ana gruba ayrılır:

- **Rigid Docking:** Hem ligand hem de reseptör sabit bir yapıda kabul edilir. Bu yöntem hızlı ve basittir, ancak protein esnekliği göz ardı edildiğinden biyolojik gerçeklikle sınırlı olabilir (Kuder, 2024).
- **Flexible Docking:** Ligand ve/veya hedef protein esnek kabul edilir. Ligandın döner bağları ve konformasyonları hesaba katılırken, bazı algoritmalar bağlanma cebindeki amino asitlerin de hareket etmesine izin verir. Gerçekçi sonuçlar sağlar ancak daha fazla hesaplama gücü gerektirir (Kuder, 2024).

3.2 Açık Erişimli Docking Araçları ve Özellikleri

Tablo 1. Açık erişimli docking araçları, kullanım özellikleri, avantajları ve dezavantajları

Yazılım	Kullanım Özelliği	Avantajları	Dezavantajları
AutoDock Vina	Rigid + flexible ligand	Hızlı, açık kaynak, geniş destek topluluğu	Proteindeki esneklik sınırlı
SwissDock	Web tabanlı, otomatik yapı	Kullanıcı dostu, ücretsiz	Büyük veri setlerinde sınırlı
Molecular Operating Environment (MOE)	Ticari, ileri düzey	Enerji hesaplarında yüksek doğruluk	Lisans maliyeti yüksek
DockThor	Protein–ligand docking	GPU destekli, farklı bağlanma modlarını analiz eder	Kullanıcı arayüzü sınırlı olabilir

3.3 Skorlama Fonksiyonları

Docking işlemi sonunda elde edilen sonuçlar, ligandın hedefe ne kadar güçlü bağlandığını gösteren skorlarla değerlendirilir. Bu skorlama fonksiyonları üç ana gruba ayrılabilir:

- **Kuvvet alanı tabanlı skorlar:** Bağlanma enerjisini klasik mekanik prensiplere göre hesaplar.
- **Ampirik skorlar:** Deneysel verilerle kalibre edilmiş katsayılarla bağlanma afinitesini öngörür.
- **Bilgi tabanlı skorlar:** Bilinen ligand-protein etkileşimlerinden çıkarılan istatistiksel modelleri kullanır.

Örneğin AutoDock Vina, bağlanma enerjisini kcal/mol cinsinden verir ve daha negatif değerler daha güçlü bağlanmayı gösterir.

3.4 Docking Sonuçlarının Biyolojik Anlamlandırılması

Docking sonuçları yalnızca bağlanma skorlarıyla değil, aynı zamanda bağlanma pozisyonu, etkileşen amino asit kalıntıları, hidrojen bağları, π - π etkileşimleri gibi yapısal verilerle değerlendirilmelidir. Molekülün bağlandığı bölgenin fonksiyonel olup olmadığı (örneğin aktif bölge mi?) biyolojik anlam açısından kritik önemdedir. Ayrıca, farklı ligandların aynı hedefe bağlanma biçimleri karşılaştırılarak selektivite ve etkinlik hakkında çıkarımlar yapılabilir (Errington, Schneider & Bouysset, 2025).

4. Moleküler Dinamik Simülasyonların Temelleri

4.1 Moleküler Dinamik Simülasyon Nedir?

Moleküler dinamik (MD) simülasyonları, atom ve moleküllerin zaman içinde hareketlerini klasik mekanik yasalar çerçevesinde hesaplayan bilgisayar destekli yöntemlerdir. Protein, ligand ve diğer biyomoleküllerin yapısal esnekliği, konformasyonel değişiklikleri ve etkileşim dinamikleri detaylı şekilde incelenebilir (Grewal, Deswal, Grewal & Guarve, 2025).

4.2 Temel Prensipler

MD simülasyonları, klasik mekaniğin temel prensiplerine dayanır. Sistemdeki her bir atom, Newton'un ikinci hareket yasası olan

$$F = ma \quad (1)$$

denklemine göre hareket eder (denklem 1); burada F kuvvet, m kütle, a ise ivmedir. Kuvvet, atomlar arasındaki potansiyel enerji yüzeyinden türetilir (denklem 2):

$$F = -\nabla v(\tau) \quad (2)$$

Burada $v(\tau)$ atomlar arasındaki potansiyel enerji fonksiyonudur ve atomlar arasındaki mesafe ve açılara bağlıdır. MD simülasyonlarında amaç, sistemin potansiyel enerji yüzeyinde belirli bir sıcaklık ve basınç altında atomların zamanla nasıl hareket ettiğini simüle etmektir.

Zaman evrimi, genellikle femtosaniye (10^{-15} s) ölçeğinde küçük adımlarla hesaplanır. Her zaman adımında atomların pozisyonları ve hızları güncellenerek moleküllerin dinamik davranışı modellenir. Tipik zaman adımları 1-2 fs arasında seçilir ve simülasyon toplamda nanosecond (ns) ila microsecond (μ s) aralığında sürebilir.

Bu iteratif hesaplamalar sayesinde, ligand-protein komplekslerinin bağlanma stabilitesi, konformasyonel değişiklikler ve esneklikler gibi dinamik özellikleri ayrıntılı biçimde incelenebilir (Prašnikar, Ljubič & Perdih, 2024).

4.3 Kuvvet Alanları (Force Fields)

MD simülasyonlarında kullanılan kuvvet alanları, molekülün atomik seviyedeki davranışını belirleyen matematiksel fonksiyonlardır. Kuvvet alanları, molekülün toplam potansiyel enerjisini aşağıdaki bileşenlere ayırır:

- **Kovalent bağlar** (bond stretch): Atomlar arasındaki bağ uzunluklarının sapmaları
- **Bağ açıları** (angle bend): İki bağ arasındaki açının değişimi
- **Dihedral açıları** (torsion): Atomlar arasındaki dönme açıları
- **Non-kovalent etkileşimler**: Van der Waals kuvvetleri ve elektrostatik etkileşimler

En yaygın kullanılan kuvvet alanlarından bazıları şunlardır:

- **AMBER**: Biyomoleküller için optimize edilmiş, protein ve nükleik asit simülasyonlarında yaygın
- **CHARMM**: Esnek ve geniş kapsamlı, protein ve lipid sistemlerinde tercih edilir
- **OPLS**: Organik moleküller ve ilaç benzeri ligandlar için optimize edilmiş
- **GROMOS**: Proteinler ve küçük moleküller için kullanılan başka bir kuvvet alanı

Her kuvvet alanı, atomik parametreleri ve potansiyel enerji terimlerinin katsayılarını farklı şekillerde tanımlar, bu yüzden simülasyonun doğruluğu için uygun kuvvet alanı seçimi kritik önemdedir (Kashefolgheta, Wang, Acree, & Hünenberger, 2021).

4.4 Simülasyon Süreci

MD simülasyonları birkaç temel aşamadan oluşur (Yekeen, Durojaye, Idris, Muritala & Arise, 2023):

Sistemin Hazırlanması:

Simülasyon yapılacak protein-ligand kompleksi hazırlanır. Kristalografi verileri, homoloji modelleme veya docking sonuçları başlangıç yapısı olabilir. Ligandın protonasyon durumu ve yükleri uygun şekilde atanır.

1. Solvasyon ve İyonların Eklenmesi:

Biyolojik ortam simülasyonu için sistem genellikle su molekülleriyle çevrenir (solvasyon). Ayrıca, elektriksel nötrlük sağlamak ve fizyolojik iyon konsantrasyonunu taklit etmek için Na^+ ve Cl^- gibi iyonlar eklenir.

2. Enerji Minimizasyonu:

Sistemdeki yüksek enerjili çakışmaların giderilmesi için atom pozisyonları optimize edilir. Bu adım simülasyonun stabil başlamasını sağlar.

3. Isıl Dengeleme (Equilibration):

Sistem, hedef sıcaklık ve basınca kademeli olarak adapte edilir. Genellikle NVT (sabit hacim ve sıcaklık) ve NPT (sabit basınç ve sıcaklık) ensemble'ları kullanılır.

4. Üretim Simülasyonu (Production Run):

Asıl simülasyon, belirlenen süre boyunca çalıştırılır ve atomların hareketleri kaydedilir. Bu süreçte moleküllerin doğal dinamikleri izlenir.

5. Analiz:

Simülasyon verileri kullanılarak RMSD (root mean square deviation), RMSF (root mean square fluctuation), bağlanma enerjileri, hidrojen bağları gibi yapısal ve dinamik parametreler hesaplanır.

4.5 Moleküler Dinamik Simülasyonlarının Uygulamaları

MD simülasyonları, özellikle antibiyotik direnci ile mücadelede ilaç tasarım süreçlerine önemli katkılar sağlar. Bu simülasyonların başlıca uygulama alanları şunlardır (Palmer, Maasch, Torres & de la Fuente-Nunez, 2021):

- **Bağlanma Stabilitésinin Değerlendirilmesi:**

Docking çalışmaları genellikle ligandın hedefe bağlanma pozisyonunu belirler; ancak bu pozisyonun zaman içindeki kararlılığı MD simülasyonlarıyla test edilir. Böylece gerçek biyolojik ortamda moleküller arasındaki etkileşimler dinamik olarak analiz edilir.

- **Konformasyonel Esneklik ve Adaptasyonun İncelenmesi:**

Proteinlerin bağlanma bölgeleri, ligandı kabul etmek için konformasyonel değişiklikler yapabilir. MD simülasyonları, bu esnekliği ve induced fit mekanizmalarını ortaya koyar, böylece daha gerçekçi bağlanma modelleri geliştirilir.

- **Direnç Mekanizmalarının Anlaşılması:**

Dirençli bakterilerde hedef proteinlerdeki mutasyonlar bağlanma bölgesinin yapısını ve dinamizmini değiştirebilir. MD ile bu değişikliklerin ligand bağlanmasına etkisi detaylıca incelenerek yeni inhibitor tasarımıda yol gösterilir.

- **Protein–Ligand Bağlanma Serbest Enerjilerinin MM/GBSA Yöntemi ile Hesaplanması**

Molecular Mechanics/Generalized Born Surface Area (MM/GBSA) yöntemi, birden fazla ligand ile bir hedef protein arasındaki bağlanma serbest enerjisini tahmin etmek için hızlı ve etkili bir yaklaşım sunar. Bu yöntem; bileşik ile protein arasındaki etkileşimleri hesaba katan moleküler mekanik hesaplamaları, ayrıca kompleksin çözünme serbest enerjisini tanımlayan Genelleştirilmiş Born (GB) çözücü modelini birleştirir (Mavroeidi vd., 2024).

Bağlanma serbest enerjisi ($\Delta G(\text{bağlanma})$) aşağıdaki denklem (denklem 3) kullanılarak hesaplanır:

$$\Delta G(\text{bağlanma}) = \Delta G(\text{çözünme}) + \Delta E(\text{moleküler mekanik}) + \Delta G(\text{yüzey alanı}) \quad (3)$$

Burada $\Delta G(\text{çözünme})$, kompleksin GBSA çözünme enerjisi ile ligandsız (serbest) protein ve inhibitörün çözünme enerjilerinin toplamı arasındaki farktır; $\Delta E(\text{Moleküler mekanik})$, ligandsız protein ve inhibitörün enerjileri toplamı ile kompleksin minimize edilmiş enerjisi arasındaki farktır; $\Delta G(\text{yüzey alanı})$ ise kompleksin yüzey alanı enerjileri ile ligandsız protein ve inhibitörün yüzey alanı enerjileri toplamı arasındaki farktır. Serbest reseptör, serbest ligand ve ligand-reseptör kompleksinin enerjisi bu farklar üzerinden hesaplanır.

- **Yapısal Su Moleküllerinin Rolü:**

MD simülasyonları, bağlanma bölgesinde kritik rol oynayan su moleküllerinin dinamik davranışlarını da ortaya çıkarır; bu bilgiler ligand tasarımıda dikkate alınabilir.

- **Hibrit Yaklaşımlar:**

Docking sonrası en iyi ligandlar MD simülasyonu ile doğrulanır; bu hibrit strateji, deneysel çalışma maliyetlerini ve süresini azaltır.

MD simülasyonları, bu avantajları sayesinde antibiyotik dirençli bakteri hedeflerinde moleküler düzeyde daha etkili ve spesifik ilaç adayları geliştirilmesine olanak tanır.

5. Örnek Uygulama: DNA Giraz Üzerinde İn Siliko Docking ve Moleküler Dinamik Simülasyon

Çalışma, belirli mutasyonların moxifloxacinin DNA giraz enzimine bağlanmasını ne kadar zayıflatıldığını nicel olarak göstermektedir. İlacın (özellikle moxifloxacin) DNA giraz adlı enzime bağlanma dinamiklerini, hem vahşi tip (wild type) hem de yaygın direnç mutasyonları (A90V, D94G ve A90V–D94G çift mutant) üzerinden moleküler modelleme ile ele almaktadır.

5.1 Hedef Protein: Mycobacterium tuberculosis DNA GyrA Mutantları

Çalışmada, M. tuberculosis'un DNA giraz A (GyrA) alt birimindeki A90V, D94G ve A90V+D94G (double mutant, DM) mutasyonları hedef alınmıştır. Bu mutasyonlar, klinik izolatlarda yüksek düzeyde fluorokinolon (örneğin moxifloxacin) direncine yol açmaktadır (Pandey vd., 2018).

5.2 Docking Prosedürü ve Sonuçlar

- Yapı olarak hem wild-type hem de mutant GyrA modelleri, protein–DNA kompleksi olarak hazırlanmıştır.
- Moxifloxacin (MFX) ile Glide XP kullanılarak rigid protein/esnek ligand docking yapılmıştır.
- Wild-type için docking skoru -7.88 kcal/mol, mutantlar için sırasıyla A90V, D94G ve DM mutasyonlarında docking skorları -3.82 kcal/mol gibi belirgin şekilde zayıflamıştır. Bu da mutasyonların bağlanma afinitesini önemli ölçüde düşürdüğünün açık bir göstergesidir (Pandey vd., 2018).

Ek olarak, 8-Methyl-moxifloxacin gibi türev ligandlarla yapılan docking, mutantlarla bile daha kaliteli skorlar vermiştir.

5.3 Bağlanma Enerjileri (MM-GBSA)

- Wild-type MFX kompleksi: -55.81 kcal/mol
- A90V: -25.87 kcal/mol
- D94G: -20.45 kcal/mol
- Double mutant: -12.29 kcal/mol (Pandey vd., 2018)

Bu değerler, mutasyonların moxifloxacin bağlanma gücünü dramatik şekilde azalttığını göstermektedir.

5.4 30 ns Moleküler Dinamik Simülasyonu

Seçilen komplekslerle (wild-type ve mutantlar) 30 ns MD simülasyonu yapılmış, RMSD, RMSF ve hidrojen bağı analizleri yapılmıştır. Bulgular:

- Wild, düşük RMSD ve sık hidrojen bağlarıyla stabil kalırken,
- Mutant komplekslerde, RMSD dalgalanmaları artmış; hidrojen bağı sayısı azalmıştır (Pandey vd., 2018).

Bu sonuçlar, mekanik stabiliteyi ve bağlanma etkinliğini doğrudan etkilemiştir.

5.5 Yorum ve Yeni Ligand Önerisi

- Wild-type enzime karşı güçlü bağlanma gözlemlenmiş (XP skoru – 7.88, MM-GBSA –55.8).
- Mutantlarda (özellikle DM) skor ve bağlanma enerjileri büyük ölçüde düşmüştür.
- Türetilen 8-Methyl-MFX gibi yapılar, mutant formlarda bağlanmayı bir miktar geri kazandırmıştır; bu da direnç kırıcı yeni jenerasyon inhibitörler geliştirilebilir fikrini güçlendirmektedir.

Tablo 2. Wild-type ve Mutant GyrA Proteinlerinde Moxifloxacin Bağlanma Skoru, Enerjisi ve Dinamik Stabilitesi.

Şekil/Parametre	Wild type	A90V	D94G	A90V+D94G
Dock Skoru (Glide XP, kcal/mol)	-7.88	–	–	-3.82
Bağlanma Enerjisi (MM-GBSA, kcal/mol)	-55.8	-25.9	-20.5	-12.3
MD Stabilite (RMSD, hidrojen bağı)	Stabil	Zayıf	Zayıf	Çok Zayıf

6. Bölümün Sonuç ve Değerlendirmesi

Bu örnek çalışma, DNA giraz enzimi üzerinde gerçekleştirilen in siliko docking ve moleküler dinamik simülasyonlarının, antibiyotik direncine karşı yeni ve etkili inhibitörlerin keşif süreçlerinde ne denli önemli ve etkili bir yöntem olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle, docking yönteminin hızlı ve maliyet etkin yapısı, büyük ligand kütüphanelerinin ön taraması için ideal bir araç olarak öne çıkarken, moleküler dinamik simülasyonları sayesinde bu aday moleküllerin bağlanma bölgelerinde nasıl bir davranış sergiledikleri, bağlanma stabiliteyi ve protein-ligand komplekslerinin zaman içerisindeki konformasyonel değişimleri detaylı şekilde analiz edilmiştir.

Bu yaklaşımlar, geleneksel deneysel yöntemlere kıyasla araştırma ve geliştirme süreçlerini önemli ölçüde hızlandırmakta ve maliyetleri azaltmaktadır. İn siliko çalışmalar, özellikle antibiyotik dirençli bakterilerde ortaya çıkan mutasyonların bağlanma ceplerine etkisinin anlaşılmasında ve böylece direnç mekanizmalarının moleküler düzeyde modellenmesinde önemli bir rol

oynamaktadır. Bu bağlamda, moleküler docking ile moleküler dinamik simülasyonlarının birlikte kullanılması, daha yüksek başarı oranına sahip ilaç adaylarının belirlenmesine olanak sağlamaktadır.

Bununla birlikte, in siliko yaklaşımların bazı sınırlamaları da göz önünde bulundurulmalıdır. Protein ve ligand modellerinin doğruluğu, seçilen kuvvet alanlarının ve skorlama fonksiyonlarının kalitesi ile doğrudan ilişkilidir. Ayrıca, simülasyonların belirli bir zaman ölçeği ve başlangıç konformasyonu üzerinde yapılması, bazı uzun vadeli biyolojik olayların kaçırılmasına sebep olabilir. Bu nedenle, simülasyon sonuçlarının deneysel biyolojik verilerle, hücresel ve in vivo modellerle desteklenmesi şarttır. İn siliko veriler tek başına kesin sonuçlar vermek yerine, deneysel araştırmalarla tamamlayıcı rol oynamalıdır.

Günümüzde hesaplama gücündeki artış, algoritmaların gelişimi ve veri tabanlarının zenginleşmesi sayesinde, moleküler docking ve dinamik simülasyonlarının doğruluğu ve uygulanabilirliği giderek artmaktadır. Bu gelişmeler, çok hedefli ilaç tasarımı, allosterik modölatörlerin keşfi ve kişiye özel ilaç geliştirme gibi yeni alanlarda da bu tekniklerin kullanılmasını mümkün kılmaktadır. Ayrıca, yapay zekâ ve makine öğrenimi algoritmalarının in siliko ilaç tasarım süreçlerine entegrasyonu, araştırma hızını ve doğruluğunu daha da artıracaktır.

Sonuç olarak, moleküler docking ve moleküler dinamik simülasyon teknikleri, antibiyotik direnci gibi kritik sağlık sorunlarına karşı yeni nesil antibiyotiklerin geliştirilmesinde vazgeçilmez araçlar olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu yöntemlerin multidisipliner yaklaşımlarla desteklenmesi, ilaç keşfi süreçlerinin daha etkin, hızlı ve ekonomik ilerlemesini sağlayacak, dolayısıyla küresel antibiyotik direnci krizinin yönetiminde önemli katkılar sunacaktır.

KAYNAKÇA

- Ameji, P. J., Uzairu, A., Shallangwa, G. A., et al. (2023). RETRACTED ARTICLE: Molecular docking simulation, drug-likeness assessment, and pharmacokinetic study of some cephalosporin analogues against a penicillin-binding protein of *Salmonella typhimurium*. *Journal of Antibiotics*, 76(2), 211–224. <https://doi.org/10.1038/s41429-023-00598-y>
- Drusin, S. I., Le Terrier, C., Poirel, L., Bonomo, R. A., Vila, A. J., & Moreno, D. M. (2024). Structural basis of metallo- β -lactamase resistance to taniborbactam. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 68, e01168-23. <https://doi.org/10.1128/aac.01168-23>
- Ejalonibu, M. A., Ogundare, S. A., Elrashedy, A. A., Ejalonibu, M. A., Lawal, M. M., Mhlongo, N. N., & Kumalo, H. M. (2021). Drug discovery for *Mycobacterium tuberculosis* using structure-based computer-aided drug design approach. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(24), 13259. <https://doi.org/10.3390/ijms222413259>
- Elshobary, M. E., Badawy, N. K., Ashraf, Y., Zatioun, A. A., Masriya, H. H., Ammar, M. M., Mohamed, N. A., Mourad, S., & Assy, A. M. (2025). Combating antibiotic resistance: Mechanisms, multidrug-resistant pathogens, and novel therapeutic approaches: An updated review. *Pharmaceuticals*, 18(3), 402. <https://doi.org/10.3390/ph18030402>
- Errington, D., Schneider, C., Bouysset, C., & et al. (2025). Assessing interaction recovery of predicted protein-ligand poses. *Journal of Cheminformatics*, 17, 76. <https://doi.org/10.1186/s13321-025-01011-6>
- Grewal, S., Deswal, G., Grewal, A. S., & Guarve, K. (2025). Molecular dynamics simulations: Insights into protein and protein-ligand interactions. *Advances in Pharmacology*, 103, 139–162. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2025.01.007>
- Guterres, H., & Im, W. (2023). CHARMM-GUI-based induced fit docking workflow to generate reliable protein-ligand binding modes. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 63(15), 4772–4779. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.3c00416>
- Hibbert, T., Krpetic, Z., Latimer, J., Leighton, H., McHugh, R., Pottenger, S., Wragg, C., & James, C. E. (2024). Antimicrobials: An update on new strategies to diversify treatment for bacterial infections. *Advances in Microbial Physiology*, 84, 135–241. <https://doi.org/10.1016/bs.ampbs.2023.12.002>
- Katlaria, S., Chauhan, A. S., Kumar, K., Kumar, M., Chauhan, B., & Jakhmola, V. (2024). Pharmacophore insights and molecular docking of ciprofloxacin analogues against 2XE1: Strategies for reduced antibiotic resistance. *Journal*

- of *Applied Pharmaceutical Research*, 12(6), 100–121.
<https://doi.org/10.69857/joapr.v12i6.660>
- Kashefolgheta, S., Wang, S., Acree, W. E., Jr., & Hünenberger, P. H. (2021). Evaluation of nine condensed-phase force fields of the GROMOS, CHARMM, OPLS, AMBER, and OpenFF families against experimental cross-solvation free energies. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 23, 13055–13074. <https://doi.org/10.1039/D1CP01373J>
- Kuder, K. J. (2024). Docking foundations: From rigid to flexible docking. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 2780, pp. 3–14). https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3985-6_1
- Malik, S. S., & Mundra, S. (2023). Increasing consumption of antibiotics during the COVID-19 pandemic: Implications for patient health and emerging antimicrobial resistance. *Antibiotics*, 12(1), 45. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12010045>
- Maus, H., Hinze, G., Hammerschmidt, S. J., Schirmeister, T., & Basché, T. (2023). Conformational selection and induced fit: The behavior of two homologous proteases. *ChemistryEurope*, 1(3), e202300060. <https://doi.org/10.1002/ceur.202300060>
- Mavroeidi, P., Zorba, L. P., Tzouras, N. V., Neofotistos, S. P., Georgiou, N., Sahin, K., Şentürk, M., Durdagi, S., Vougioukalakis, G. C., & Mavromoustakos, T. (2024). Are terminal alkynes necessary for MAO A/MAO B inhibition? A new scaffold is revealed. *Molecules*, 29(11), 2486. <https://doi.org/10.3390/molecules29112486>
- Mohanty, M., & Mohanty, P. S. (2023). Molecular docking in organic, inorganic, and hybrid systems: A tutorial review. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s00706-023-03076-1>
- Muhammed, M. T., & Akı-Yalçın, E. (2021). Pharmacophore modeling in drug discovery: Methodology and current status. *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry*, 8(3), 749–762.
- Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Aguilar, G. R., Gray, A., ... Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Naghavi, M., Vollset, S. E., Ikuta, K. S., Swetschinski, L. R., Gray, A. P., Wool, E. E., Robles Aguilar, G., ... Musicha, P. (2024). Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: A systematic analysis with forecasts to 2050. *The Lancet*, 404(10459), 1199–1226.

- Palmer, N., Maasch, J. R. M. A., Torres, M. D. T., & de la Fuente-Nunez, C. (2021). Molecular dynamics for antimicrobial peptide discovery. *Infection and Immunity*, 89(10), e00703-20. <https://doi.org/10.1128/iai.00703-20>
- Pandey, B., Grover, S., Tyagi, C., Goyal, S., Jamal, S., Singh, A., Kaur, J., & Grover, A. (2018). Dynamics of fluoroquinolones induced resistance in DNA gyrase of *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 36(2), 362–375. <https://doi.org/10.1080/07391102.2016.1277784>
- Partridge, S. R., Kwong, S. M., Firth, N., & Jensen, S. O. (2018). Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(4), e00088-17. <https://doi.org/10.1128/cmr.00088-17>
- Prašnikar, E., Ljubič, M., Perdih, A., & et al. (2024). Machine learning heralding a new development phase in molecular dynamics simulations. *Artificial Intelligence Review*, 57, 102. <https://doi.org/10.1007/s10462-024-10731-4>
- Pulingam, T., Parumasivam, T., Gazzali, A. M., Sulaiman, A. M., Chee, J. Y., Lakshmanan, M., Chin, C. F., & Sudesh, K. (2022). Antimicrobial resistance: Prevalence, economic burden, mechanisms of resistance and strategies to overcome. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 170, 106103. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2021.106103>
- Şahin, K., Orhan, M. D., Avşar, T., & Durdağı, S. (2021). Hybrid in silico and TR-FRET-guided discovery of novel BCL-2 inhibitors. *ACS Pharmacology & Translational Science*, 4(3), 1111–1123. <https://doi.org/10.1021/acspstsci.0c00210>
- Sahin, K., Zengin Kurt, B., Sonmez, F., & Durdagi, S. (2020). Novel AChE and BChE inhibitors using combined virtual screening, text mining and in vitro binding assays. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 38(11), 3342–3358. <https://doi.org/10.1080/07391102.2019.1660218>
- Shen, C., Zhang, X., Hsieh, C., Deng, Y., Wang, D., Xu, L., Wu, J., Li, D., Kang, Y., Hou, T., & Pan, P. (2023). A generalized protein–ligand scoring framework with balanced scoring, docking, ranking and screening powers. *Chemical Science*, 14(22), 8129–8146. <https://doi.org/10.1039/D3SC02044D>
- Verma, A. K., Ahmed, S. F., Hossain, M. S., Bhojiya, A. A., Mathur, A., Upadhyay, S. K., ... Bahadur, N. M. (2022). Molecular docking and simulation studies of flavonoid compounds against PBP-2a of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40(21), 10561–10577. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1944911>
- Wouters, O. J., McKee, M., & Luyten, J. (2020). Estimated research and development investment needed to bring a new medicine to market, 2009–2018. *JAMA*, 323(9), 844–853. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.1166>

- Wu, K., Karapetyan, E., Schloss, J., Vadgama, J., & Wu, Y. (2023). Advancements in small molecule drug design: A structural perspective. *Drug Discovery Today*, 28(10), 103730. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2023.103730>
- Yekeen, A. A., Durojaye, O. A., Idris, M. O., Muritala, H. F., & Arise, R. O. (2023). CHAPERONg: A tool for automated GROMACS-based molecular dynamics simulations and trajectory analyses. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 21, 4849–4858. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2023.09.024>
- Zalewska, M., Błażejewska, A., Czapko, A., & Popowska, M. (2021). Antibiotics and antibiotic resistance genes in animal manure – consequences of its application in agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 12, Article 610656. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.610656>



BÖLÜM 2

Moleküler Onkolojide Rasyonel İlaç Tasarımı: Sanal Tarama ve Qsar Temelli Hit-To-Lead Optimizasyonu

Kader Şahin¹

1. GİRİŞ

Kanser, günümüzde hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde en önemli sağlık problemlerinden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, kanser nedeniyle yaşanan ölüm oranları her yıl artmakta olup, bu hastalığın önlenmesi ve tedavisi için etkili stratejilerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır (Bray, Laversanne & Sung, 2024). Kanser, hücrelerin kontrolsüz çoğalması ve anormal büyümesi ile karakterize edilen kompleks bir hastalık olup, farklı moleküler mekanizmalar ve genetik değişikliklerle ilişkilidir. Bu durum, kanser tedavisinde klasik kemoterapötik ilaçların yanı sıra, daha hedefe yönelik ve moleküler bazda tasarlanmış tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesini zorunlu kılmıştır (Sazonova vd., 2024). Moleküler onkoloji, kanserin moleküler temellerini anlamaya odaklanan multidisipliner bir bilim dalıdır.

Bu alanda yapılan çalışmalar, kanser gelişiminde rol oynayan onkogenler, tümör baskılayıcı genler, sinyal iletim yolları ve hücre döngüsü düzenleyiciler gibi birçok biyolojik hedefin keşfedilmesini sağlamıştır. Bu biyolojik hedeflerin yapısal ve işlevsel özelliklerinin anlaşılması, ilaç tasarımı rasyonel ve hedef odaklı yaklaşımların temelini oluşturur. Rasyonel ilaç tasarımı, biyolojik hedeflerin moleküler düzeyde incelenmesi ve bu hedeflere spesifik olarak bağlanabilen küçük moleküllerin bilgisayar destekli yöntemlerle tasarlanması sürecidir. Böylece, tedavi etkinliği artırılırken yan etkiler azaltılabilir (Sazonova vd., 2024).

Son yıllarda bilişim teknolojilerindeki gelişmeler, ilaç keşfi süreçlerinde önemli yeniliklere yol açmıştır. Bilgisayar destekli ilaç tasarımı (Computer-Aided Drug Design- CADD) yöntemleri, geniş kimyasal kütüphanelerden potansiyel aday moleküllerin hızlı ve maliyet etkin bir şekilde taranmasına olanak sağlar. Sanal tarama (virtual screening) yöntemleri, biyolojik hedefin yapısal bilgisi veya bilinen aktif moleküller temel alınarak büyük molekül kütüphanelerinin in silico ortamda incelenmesini sağlar. Bu sayede deneysel test edilmesi gereken molekül sayısı önemli ölçüde azaltılır ve araştırma sürecinin verimliliği artırılır (Oli, Kaur & Kumar, 2024).

¹ Doç. Dr., Bandırma Onyedi Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya ABD, 0000-0002-9056-9000

Bununla birlikte, moleküllerin sadece hedefe bağlanma yeteneği değil, aynı zamanda biyolojik aktivite, toksisite, farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerinin de değerlendirilmesi gerekmektedir. Kantitatif yapı-aktivite ilişkileri (QSAR) modelleri, moleküllerin kimyasal yapıları ile biyolojik aktiviteleri arasındaki ilişkileri matematiksel ve istatistiksel yöntemlerle ortaya koyar. Bu modeller, yeni bileşiklerin aktivitelerini önceden tahmin etmeye ve toksisite gibi olumsuz etkileri azaltmaya yardımcı olur. QSAR analizleri hem klasik istatistiksel yöntemleri hem de yapay zekâ tekniklerini içerebilir ve bu sayede moleküler özelliklerin kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesini sağlar (Vasilev & Atanasova, 2025).

Bu kitap bölümü, moleküler onkoloji alanında rasyonel ilaç tasarımının temel prensiplerini ve uygulamalarını detaylı biçimde incelemeyi hedeflemektedir. Özellikle, sanal tarama ve QSAR temelli yaklaşımlar ile tarama sonucu elde edilen hit bileşiklerin lead adaylara dönüştürülmesi aşamasındaki hit-to-lead optimizasyon süreci üzerinde durulacaktır. Hit-to-lead optimizasyonu, tarama aşamasından sonra belirlenen hit moleküllerin yapısal olarak optimize edilerek, daha yüksek aktivite, daha iyi seçicilik ve uygun farmakokinetik özelliklere sahip lead bileşiklere dönüştürülmesi sürecidir. Bu süreçte moleküler dinamik simülasyonlar, bağlanma enerjisi hesaplamaları ve ADMET tahminleri gibi ileri düzey yöntemler kullanılır.

Son yıllarda yapay zekâ, makine öğrenmesi ve derin öğrenme algoritmalarının ilaç tasarımına entegrasyonu, bu alandaki gelişmeleri hızlandırmıştır. Çoklu omik verilerinin entegre edilmesi ve kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımları, moleküler onkolojide tedavi etkinliğinin artırılması ve yan etkilerin minimize edilmesi yönünde yeni fırsatlar sunmaktadır. Bu bağlamda, rasyonel ilaç tasarımı yalnızca moleküler keşif süreçlerinde değil, aynı zamanda klinik öncesi ve klinik gelişim aşamalarında da kritik bir rol oynamaktadır (Ocana, Pandiella & Privat, 2025)

Özetle, moleküler onkolojide rasyonel ilaç tasarımı, sanal tarama ve QSAR temelli yöntemler, kanser tedavisinde yeni nesil ilaçların geliştirilmesinde temel araçlar olarak ön plana çıkmaktadır. Bu teknolojik ve metodolojik yaklaşımlar, ilaç keşif süreçlerini daha hızlı, etkili ve güvenli hale getirmekte, böylece hasta sağlığı ve yaşam kalitesinin artırılmasına önemli katkılar sağlamaktadır.

2. MOLEKÜLER ONKOLOJİDE HEDEF BELİRLEME

Kanser tedavisinde moleküler hedef belirleme, hastalığın moleküler mekanizmalarını anlamak ve bu mekanizmalara özgü tedavi stratejileri geliştirmek açısından kritik öneme sahiptir. Moleküler hedefler, kanser hücrelerinin büyümesini, çoğalmasını ve metastazını düzenleyen genler, proteinler veya sinyal yolları olabilir. Bu bölümde, moleküler onkolojide öncelikli hedefler olarak kabul edilen onkogenler, tümör baskılayıcı genler ve

sinyal yolları incelenecek, hedeflerin yapısal özelliklerinin belirlenmesi yöntemleri ile hedef seçiminin bilimsel temelleri ele alınacaktır (Ma, Zhang & Wu, 2025).

2.1 Onkogenler ve Tümör Baskılayıcı Genler

Kanserin genetik temelleri üzerine yapılan çalışmalar, hücre proliferasyonunu kontrol eden genlerin mutasyon, amplifikasyon veya başka yapısal değişikliklerle işlev bozukluğuna uğradığını göstermiştir. Bu genler genel olarak iki ana gruba ayrılır:

- **Onkogenler:** Normalde hücre büyümesini ve bölünmesini düzenleyen proto-onkogenlerin mutasyona uğramasıyla aktifleşerek kanser gelişimine yol açan genlerdir. Örneğin, *RAS*, *MYC*, *HER2/neu* ve *BCR-ABL* gibi onkogenler, kanser hücrelerinde aşırı aktivite göstererek hücre proliferasyonunu artırır. Onkogenler, protein kinazlar, transkripsiyon faktörleri veya hücre yüzeyi reseptörleri olabilir. Bu proteinlerin yapısal ve fonksiyonel özellikleri, rasyonel ilaç tasarımı için doğrudan hedeflenmektedir (Godhwani, 2025).
- **Tümör Baskılayıcı Genler:** Hücre büyümesini ve çoğalmasını engelleyen, DNA onarımını sağlayan ya da hücre ölümünü tetikleyen genlerdir. *TP53*, *RB1*, *BRCA1/2* gibi genler, mutasyon veya inaktivasyon sonucu kanser oluşumuna zemin hazırlar. Bu genlerin protein ürünlerinin yapısal stabilitesi ve fonksiyonlarının korunması, hedef odaklı tedavilerde önemlidir. Tümör baskılayıcı genlerin doğrudan ilaçla hedeflenmesi zordur; bu nedenle genellikle bu genlerin yokluğunda aktive olan alternatif yollar veya bağlayıcı proteinler hedef alınır (Chahat vd., 2025).

2.2 Sinyal Yolları ve Hücre Mekanizmaları

Kanser hücrelerinde hücre içi ve hücreler arası iletişimi sağlayan sinyal yollarının anormal aktivitesi, tümör büyümesi ve metastazın temel mekanizmalarındandır. Bu sinyal yolları, hücre büyümesi, farklılaşma, apoptozis (programlanmış hücre ölümü), angiogenez ve hücre hareketliliği gibi süreçleri düzenler. Onkolojik hedefleme çalışmalarında, özellikle aşağıdaki sinyal yolları önem taşımaktadır (He vd., 2021):

- **MAPK/ERK Yolu:** Hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını kontrol eden bir yoldur. *RAS*, *RAF*, *MEK* ve *ERK* proteinleri bu yolda yer alır ve sıklıkla mutasyonlar sonucu aktivasyonu kanserde artırır. Bu protein kinazlar, hedefe yönelik inhibitör ilaç geliştirmede öncelikli hedeflerdir.

- **PI3K/AKT/mTOR Yolu:** Hücre büyümesi, metabolizma ve hayatta kalmayı düzenler. Bu yolak, özellikle birçok kanser türünde aşırı aktive olur. Bu yoldaki enzimler, küçük moleküllü inhibitörlerle bloke edilerek tümör büyümesi engellenebilir.
- **Wnt/ β -katenin Yolu:** Hücre çoğalması ve farklılaşmasıyla ilişkilidir. Bu yolun düzensizliği özellikle kolon kanseri ve bazı diğer kanser türlerinde gözlenir.
- **Notch ve Hedgehog Yolları:** Embriyonik gelişimde rol oynayan ve kanserde de anormal aktivasyon gösteren diğer sinyal yolaklarıdır.

Bu sinyal yollarının bileşenleri, protein-protein etkileşimleri ve yapısal özellikleri, rasyonel ilaç tasarımı için önemli hedef noktalarıdır.

2.3 Protein Yapılarının Elde Edilmesi

Rasyonel ilaç tasarımında hedef proteinin üç boyutlu yapısının bilinmesi kritik bir gerekliliktir. Protein yapısının doğru ve ayrıntılı şekilde belirlenmesi, ligand bağlama bölgelerinin tanımlanması ve bu bölgelere özgü moleküllerin tasarımı için temel teşkil eder. Protein yapısı elde etmek için başlıca yöntemler şunlardır:

- **X-Işını Kristalografisi:** Proteinlerin atomik seviyede yapısal çözümlemesini sağlayan altın standart yöntemdir. Proteinler kristalize edilerek kristal yapıları X-ışını difraksiyonu ile analiz edilir. Bu yöntem yüksek çözünürlükte yapı bilgisi sağlar ancak kristalizasyon zorluğu ve bazı proteinler için uygulanamaması gibi sınırlamaları vardır (Budziszewski, Stojanoff & Bowman, 2025).
- **Kriyogenik Elektron Mikroskopu (Cryo-EM):** Son yıllarda hızlı gelişen bu yöntem, özellikle büyük ve kompleks protein yapılarının yüksek çözünürlükte görüntülenmesini sağlar. Proteinlerin donmuş haldeki konformasyonları analiz edilerek üç boyutlu yapıları elde edilir. Cryo-EM, kristalizasyon gerektirmemesi nedeniyle pek çok hedef için tercih edilir (Peplow, 2020).
- **Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi:** Daha küçük proteinler için kullanılan bu yöntem, çözeltideki proteinlerin dinamik yapısını belirlemede etkilidir. Yapı çözümlemenin yanı sıra protein hareketlerinin incelenmesi için de uygundur (Pintér vd., 2021).
- **Hesaplamalı Modelleme ve AlphaFold:** Deneysel yapıların yetersiz kaldığı durumlarda, protein yapılarının hesaplamalı yöntemlerle tahmin edilmesi önemli hale gelmiştir. Google DeepMind'ın geliştirdiği AlphaFold algoritması, amino asit dizilerinden yüksek doğrulukta üç boyutlu protein yapısı tahmini yaparak ilaç tasarımına

önemli katkılar sağlamaktadır. Bu yöntem, bilinmeyen veya kristalografisi yapılamayan hedef proteinler için değerli bir kaynak sunar (Callaway, 2025).

2.4. Druggability (İlaçlanabilirlik) ve Hedef Seçimi

İdeal bir ilaç hedefinin seçimi, sadece hedefin hastalık patogenezindeki rolüyle değil, aynı zamanda moleküler yapısal özellikleriyle de ilişkilidir. Bir proteinin “druggable” (ilaçlanabilir) olması, üzerinde küçük moleküllerin bağlanabileceği uygun aktif veya allosterik bağlanma bölgelerinin bulunması anlamına gelir. Druggability değerlendirmesi, hedefin yapısal analizleri ve biyoinformatik araçlarla yapılır.

Druggability analizi sırasında:

- Bağlanma ceplerinin büyüklüğü, derinliği ve kimyasal özellikleri,
- Protein yüzeyinin esnekliği ve hareketliliği,
- Bağlanma bölgesinde su moleküllerinin rolü,
- Protein-protein etkileşim alanları,

gibi faktörler değerlendirilir.

Yüksek druggability'ye sahip hedefler, küçük molekülü ilaç geliştirme için öncelikli adaylardır. Bunun yanında, hedefin seçiciliği, biyolojik fonksiyonu, hastalıkla ilişkisi ve yan etkiler açısından risk profili de dikkate alınır. Ayrıca, hedefin mutasyon oranı ve heterojenliği, ilaç direnci gelişimi açısından önemlidir.

Sonuç olarak, moleküler onkolojide hedef belirleme, kanser hücresinin moleküler yapısının derinlemesine anlaşılması, uygun hedeflerin seçilmesi ve bu hedeflerin yapısal özelliklerinin ayrıntılı şekilde ortaya konmasıyla mümkündür. Bu süreç, rasyonel ilaç tasarımının ilk ve en kritik adımıdır (Yuan, Han, Richter, Wade & Kokh, 2020).

3. SANAL TARAMADA KULLANILAN YÖNTEMLER

İlaç keşif sürecinde, biyolojik hedeflere yönelik büyük kimyasal bileşik kütüphanelerinin etkin ve hızlı bir şekilde taranması, yeni potansiyel ilaç adaylarının belirlenmesini sağlar. Geleneksel deneysel tarama yöntemleri yüksek maliyetli ve zaman alıcı olduğu için, bilgisayar destekli sanal tarama teknikleri son yıllarda ön plana çıkmıştır. Sanal tarama, in silico ortamda moleküler kütüphanelerinin hedef proteinle etkileşim potansiyeline göre değerlendirilmesi ve önceliklendirilmesini kapsar. Bu bölümde, sanal taramada kullanılan temel yaklaşımlar, moleküler docking teknikleri, skrolama fonksiyonları ve ön

filtreleme yöntemleri ayrıntılı şekilde ele alınacaktır (Gorgulla, Jayaraj, Fackeldey & Arthanari, 2022)

3.1 Ligand-Temelli ve Yapı-Temelli Sanal Tarama

Sanal tarama yöntemleri iki ana kategoriye ayrılır:

- **Ligand-temelli (Ligand-Based Virtual Screening, LBVS):**
Bu yaklaşımda, hedef proteinin yapısal bilgisi olmadan, bilinen aktif moleküller (ligandlar) temel alınarak benzer yapıya sahip bileşiklerin belirlenmesi hedeflenir. Kimyasal yapı benzerliği, farmakofor modelleme, kuantitatif yapı-aktivite ilişkileri (QSAR) ve moleküler parmak izi (fingerprint) analizleri sık kullanılan tekniklerdir. LBVS, hedefin yapısal bilgisi mevcut olmadığında veya alternatif ligandlar keşfetmek istendiğinde tercih edilir (Sciabola, Torella, Nagata & Boehm, 2022).
- **Yapı-temelli (Structure-Based Virtual Screening, SBVS):**
Yapı-temelli taramada, hedef proteinin üç boyutlu yapısı kullanılarak ligandların proteine bağlanma potansiyeli değerlendirilir. Protein bağlanma cepleri tanımlanır ve ligandların bu ceplere nasıl oturduğu moleküler docking algoritmalarıyla simüle edilir. Bu yöntem, protein yapısı mevcut olduğunda daha doğrudan ve hedef odaklı sonuçlar verir (Carlsson & Luttens, 2024). Her iki yöntemin de avantajları ve sınırlamaları bulunmakla birlikte, günümüzde hibrit yaklaşımlar da kullanılmakta, bu sayede daha kapsamlı ve güvenilir tarama sonuçları elde edilmektedir.

3.2 Moleküler Docking Teknikleri

Moleküler docking, ligand ve hedef protein arasındaki bağlanma pozisyonunu ve bağlanma şeklini tahmin eden hesaplamalı bir yöntemdir. Docking işlemi, ligandın bağlanma cebine yerleşimini (pozisyon ve konformasyon) belirlemek ve bu etkileşimin stabilitesini skorlama fonksiyonları ile değerlendirmek üzere iki aşamadan oluşur.

- **Konformasyon ve Pozisyon Arama:**

Ligandın bağlanma bölgesinde alabileceği farklı konumlar, dönüşümler ve bağlanma açıları hesaplanır. Bu işlem sırasında protein genellikle rijid kabul edilirken ligandın esnekliği dikkate alınır. Ancak esnek protein docking yöntemleri de geliştirilmiştir (Asim, 2024).

- **Skorlama Fonksiyonları:**

Ligand-protein kompleksinin enerji ve bağlanma uygunluğunu nicel olarak değerlendiren matematiksel modellerdir. Skorlama fonksiyonları hidrofobik etkileşimler, hidrojen bağları, elektrostatik kuvvetler, van der Waals kuvvetleri gibi faktörleri göz önüne alır. Yaygın skorlama fonksiyonları arasında GlideScore, AutoDock Vina skoru ve ChemScore bulunmaktadır (Wang vd., 2023)

Popüler docking programları arasında AutoDock, AutoDock Vina, Glide, GOLD ve DOCK yer almaktadır. Bu programlar, farklı algoritma ve skorlama fonksiyonları ile ligandların bağlanma pozisyonlarını tahmin eder.

3.3 Skorlama Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi

Skorlama fonksiyonları, sanal tarama sonuçlarının doğruluğunu belirlemede kritik rol oynar. İyi bir skorlama fonksiyonu, doğru bağlanma konformasyonlarını yüksek puanlarla ödüllendirirken, düşük affiniteye sahip konumları elemelidir. Ancak, mevcut skorlama fonksiyonları bazen gerçek biyolojik aktiviteyi tam yansıtmayabilir; bu nedenle, sonuçlar deneysel verilerle doğrulanmalıdır.

Skorlama fonksiyonları temelde üç gruba ayrılır:

- **Force field tabanlı:** Fiziksel enerji hesaplamalarına dayanır.
- **Empirik:** Deneysel verilerden türetilen katsayılarla bağlanma enerjisini hesaplar.
- **Bilgi tabanlı:** Protein-ligand etkileşimlerinden elde edilen istatistiksel verilerden faydalanır.

Sanal taramada en iyi sonuçlar, farklı skorlama fonksiyonlarının kombinasyonu ve ek filtrelerle elde edilir (Zhang, Shen & Jiang, 2023).

3.4 Filtreleme ve Ön Eleme Kriterleri

Sanal tarama öncesi ve sonrası aşamalarda, aday bileşiklerin farmakokinetik ve toksikolojik özelliklerini değerlendirmek için çeşitli filtreleme yöntemleri kullanılır. Bunlar, araştırma sürecinin etkinliğini artırmak ve başarısızlık riskini azaltmak için önemlidir.

- **Lipinski'nin "İlaç Benzeri" Kuralları:** Moleküllerin uygun ilaç özelliklerine sahip olup olmadığını belirlemek için kullanılan klasik kriterlerdir. Molekül ağırlığı, hidrojen bağlayıcı donör ve alıcı sayısı, lipofiliklik (LogP) gibi parametreleri içerir (Roskoski, 2023).

- **PAINS (Pan Assay Interference Compounds) Filtreleri:** Biyolojik testlerde yanıltıcı pozitif sonuçlar veren yapısal motifleri belirler ve elenir (Bolz, Adasme & Schroeder, 2021).
- **ADMET Ön Değerlendirmesi:** Absorpsiyon, dağılım, metabolizma, eliminasyon ve toksisite özellikleri in siliko tahmin yöntemleriyle analiz edilir. Bu, aday bileşiklerin farmakokinetik açıdan uygunluğunu gösterir (Niu, Xiao & Wu, 2024).

Bu filtreleme adımları, özellikle yüksek sayıda bileşiğin tarandığı durumlarda, kaynakların daha verimli kullanılmasını sağlar.

4. QSAR MODELLERİ İLE AKTİVİTE TAHMİNİ

Kantitatif Yapı-Aktivite İlişkileri (Quantitative Structure–Activity Relationship, QSAR), kimyasal bileşiklerin yapısal özelliklerini kullanarak biyolojik aktivitelerini nicel olarak tahmin etmeye yönelik güçlü bir in siliko modelleme yöntemidir. QSAR modelleri, özellikle sanal tarama süreçlerinin ardından elde edilen moleküllerin etkinliğini ve güvenilirliğini değerlendirmede önemli bir rol oynar. Bu yöntem, klasik deneysel testlerin zaman ve maliyet kısıtlarını aşarak, öncelikli adayların belirlenmesini ve optimize edilmesini kolaylaştırır. Moleküler onkoloji gibi yüksek özgüllük gerektiren alanlarda QSAR analizleri, özellikle hedefe seçici ligand geliştirme süreçlerinde etkili şekilde kullanılmaktadır (Li, Zhao, Yang, Du, & Xu, 2025).

4.1 QSAR'ın Temel Prensipleri

QSAR modeli, kimyasal bileşiklerin yapılarından türetilen sayısal özelliklerin (deskriptörler) kullanılmasıyla biyolojik aktivitenin matematiksel olarak modellenmesi temeline dayanır. Model şu genel denklemle (denklem 1) ifade edilir (Li, Zhao, Yang, Du, & Xu, 2025):

$$\text{Aktivite} = f(\text{Deskriptör}_1, \text{Deskriptör}_2, \dots, \text{Deskriptör}_n) \quad (1)$$

Bu fonksiyon, doğrusal ya da doğrusal olmayan olabilir. Amaç, molekülün sahip olduğu yapısal özelliklerin biyolojik hedefle olan etkileşimine nasıl yansıdığını öngörmektir.

QSAR modelleri genellikle aşağıdaki adımları içerir:

1. Veri kümesinin oluşturulması (moleküller + aktivite verileri)
2. Moleküler deskriptörlerin hesaplanması
3. Modelleme (regresyon, sınıflandırma, vb.)
4. Model validasyonu

5. Yeni bileşikler üzerinde öngörude bulunma

4.2 Moleküler Deskriptör Türleri

Deskriptörler, moleküllerin yapısal, elektronik ve fiziksel özelliklerini sayısal olarak tanımlar. Kullanılan deskriptör türleri şu başlıklarda toplanabilir:

- **1D Deskriptörler:** Molekül ağırlığı, atom sayısı, LogP gibi temel özellikler.
- **2D Deskriptörler:** Bağ yapısı, yüzey alanı, polarite, moleküler fragmanlar.
- **3D Deskriptörler:** Uzaysal konformasyon, moleküler hacim, elektrostatik potansiyel.
- **Topolojik Deskriptörler:** Molekül graf yapıları, halkalar, dallanmalar.
- **Elektronik Deskriptörler:** HOMO-LUMO enerjileri, dipol moment, yük dağılımı.

Deskriptör hesaplamaları için **PaDEL**, **Dragon**, **MOE**, **RDKit** gibi yazılımlar sıklıkla kullanılmaktadır. Çok fazla sayıda deskriptör olduğunda, fazlalıkların elenmesi (feature selection) modelin doğruluğu için önemlidir (Li, Zhao, Yang, Du, & Xu, 2025).

4.3 QSAR Modelleme Yöntemleri

Deskriptörler elde edildikten sonra, bunların biyolojik aktivite ile olan ilişkisini modellemek için çeşitli istatistiksel ve makine öğrenmesi yöntemleri kullanılır.

4.3.1 Klasik Yöntemler

- **MLR (Multiple Linear Regression):** En basit ve yorumlanabilir yöntemdir. Ancak, sadece doğrusal ilişkilerle sınırlıdır.
- **PLS (Partial Least Squares):** Çoklu deskriptörler arasındaki kolineariteyi azaltarak doğrusal modelleme sağlar.
- **PCR (Principal Component Regression):** Deskriptörleri ana bileşenlere indirger ve bu bileşenlerle regresyon yapar (Vasilev & Atanasova, 2025).

4.3.2 Makine Öğrenmesi ve AI Temelli Yöntemler

- **k-NN (k-Nearest Neighbors):** Komşuluk temelli sınıflandırma/tahmin.

- **SVM (Support Vector Machines):** Özellikle sınıflandırma problemlerinde güçlüdür.
- **Random Forest ve Decision Trees:** Çok sayıda karar ağacının kullanıldığı topluluk yöntemleri.
- **Artificial Neural Networks (ANN):** Karmaşık ve doğrusal olmayan ilişkileri öğrenmede kullanılır.
- **Deep Learning:** Özellikle büyük veri setleri için otomatik deskriptör öğrenimi ve yüksek doğruluk sağlar (Guo vd., 2023). Makine öğrenimi temelli QSAR modelleri daha güçlü öngörü kapasitesine sahip olsa da yorumlanabilirlik açısından klasik yöntemlerin gerisinde olabilir.

4.4 Model Validasyonu

QSAR modelinin güvenilirliği, doğruluğu ve genellenebilirliği çeşitli validasyon adımlarıyla test edilmelidir:

- **İç Validasyon:** K-katlamalı çapraz doğrulama (cross-validation), leave-one-out gibi yöntemlerle eğitim setinde test edilir.
- **Dış Validasyon:** Model, eğitim seti dışında kalan yeni bileşiklerle test edilir. Bu, gerçek öngörü yeteneğini belirler.
- **Y-Scrambling:** Modelin rastgele korelasyonlara dayanıp dayanmadığını test eder.
- **İstatistiksel Ölçütler:**
 - R^2 (Determinasyon Katsayısı): Uyum derecesi
 - Q^2 : Çapraz doğrulama skoru
 - RMSE (Root Mean Square Error): Ortalama hata
 - MAE (Mean Absolute Error): Ortalama mutlak hata

Modelin hem istatistiksel olarak anlamlı hem de kimyasal açıdan mantıklı olması gerekir (Király, Kiss, Kovács, Ballaj & Tóth, 2022).

4.5 QSAR'ın Moleküler Onkolojiye Katkısı

Moleküler onkolojide, QSAR modelleri ile aşağıdaki katkılar sağlanabilir:

- Farklı mutasyonlara sahip hedeflere karşı moleküler seçiciliği artırmak
- Potansiyel toksik etkileri önceden öngörmek
- Klinik öncesi adayların in vitro test ihtiyacını azaltmak

- Hit-to-lead sürecinde optimizasyon kararlarını yönlendirmek
- Özgül alt gruplarda (örneğin HER2 pozitif meme kanseri) daha etkili bileşikler geliştirmek

QSAR modelleri, deneysel testlerle birlikte kullanıldığında, moleküler onkoloji için son derece güçlü bir araç haline gelir. Özellikle yapay zekâ tabanlı modeller, verilerden otomatik olarak desenler çıkarabilir ve klasik yaklaşımlardan daha isabetli sonuçlar verebilir (Matrouk, Mohammad, Daoud & Taha, 2025).

5. HIT-TO-LEAD OPTİMİZASYONU

Hit-to-lead (H2L) optimizasyonu, sanal tarama veya deneysel yüksek verimli taramalar (HTS) sonucunda elde edilen "hit" bileşiklerin, daha güçlü, seçici ve farmakokinetik açıdan uygun "lead" bileşiklere dönüştürülmesini kapsayan kritik bir süreçtir. Moleküler onkoloji gibi terapötik alanlarda bu süreç hem hedef özgüllüğünü artırmak hem de toksisite riskini azaltmak için son derece önemlidir. Rasyonel ilaç tasarımında H2L aşaması, kimyasal yapıların sistematik olarak modifiye edilmesi ve yapısal-fonksiyonel ilişkilerin anlaşılmasına dayalı bir optimizasyon stratejisiyle yürütülür (Mei, Wu, Hao & Yang, 2021).

5.1 Hit ve Lead Kavramları

- **Hit bileşik:** Belirli bir biyolojik hedefle etkileşime girdiği saptanan ve aktivite gösteren moleküllerdir. Ancak bu moleküller genellikle düşük potentli, seçicilikten yoksun ve optimizasyon gerektiren öncüllerdir.
- **Lead bileşik:** Hit bileşiklerin yapısal olarak geliştirilmiş ve terapötik potansiyeli artmış versiyonlarıdır. Lead bileşikler, genellikle ADME (absorpsiyon, dağılım, metabolizma, eliminasyon) özellikleri açısından da geliştirilmiştir.

Hit-to-lead süreci, temel olarak şu parametrelerin iyileştirilmesine yöneliktir (Kudo, Hirao, Yoshino, Shigeta & Hirokawa, 2024):

- **Aktivite:** IC_{50} , EC_{50} gibi ölçütlerde düşüş
- **Seçicilik:** Diğer proteinlere bağlanma eğiliminin azaltılması
- **Metabolik stabilite:** CYP enzimlerine karşı dirençli yapı tasarımı
- **Çözünürlük ve biyoyararlanım:** Oral biyoyararlanımın artırılması
- **Toksisite:** Genotoksik veya sitotoksik etki potansiyelinin azaltılması

5.2 Rasyonel Tasarımla Hit-to-Lead Süreci

Rasyonel ilaç tasarımımda H2L süreci, moleküler düzeyde veriye dayalı karar mekanizmalarıyla yönlendirilir. Özellikle sanal tarama (virtual screening), QSAR ve moleküler dinamik simülasyonlar, bu süreçte yapısal rehberlik sağlar. Süreç genellikle aşağıdaki aşamaları içerir:

1. **Hit doğrulaması:** İlk sanal/deneysel taramada elde edilen adayların biyolojik testlerle doğrulanması.
2. **SAR analizi (Structure-Activity Relationship):** Etkinliğe katkıda bulunan kimyasal grupların belirlenmesi.
3. **Lead adaylarının belirlenmesi:** SAR verileri doğrultusunda modifikasyon önerileri.
4. **Farmakokinetik/ADMET optimizasyonu:** Deskriptorlara dayalı in silico analizler ile desteklenen yapısal düzeltmeler.
5. **Moleküler etkileşim analizleri:** Docking ve dinamik simülasyonlarla hedef proteinle etkileşimlerin gözlemlenmesi (Hazemann vd., 2025).

5.3 Yapı-Temelli Lead Optimizasyonu

Hedef proteinin 3D yapısı biliniyorsa, ligand bağlanma bölgeleri detaylı biçimde analiz edilebilir ve yapı-temelli optimizasyon yapılabilir. Bu yaklaşımlar arasında (Neto vd., 2020):

- **Fragment bazlı tasarım:** Ligandın bağlandığı küçük yapıların (fragments) türevlenerek daha güçlü bileşikler elde edilmesi.
- **Ligand büyütme ve modifikasyon:** Bağlı ligandın uygun pozisyonlarından radikal gruplar veya halka sistemleri ile genişletilmesi.
- **Su moleküllü yer değiştirme stratejileri:** Bağlanma bölgesindeki sabit su moleküllerinin yerini alabilecek gruplarla bağlanma enerjisini artırma.
- **Lipofilik verimlilik (LipE) optimizasyonu:** Potensi artırırken lipofilikliği kontrol altında tutmak, özellikle kanser ilaçlarında kritik bir parametredir.

5.4 İn Siliko ADMET ve Toksisite Tahmini

Lead optimizasyonunun başarısı, bileşiklerin biyoyararlanım ve toksisite profillerinin iyileştirilmesine bağlıdır. Bu noktada QSAR, yapay zekâ ve ADMET tahmin yazılımları devreye girer (Tran, Tayara & Chong, 2023).

- Gastrointestinal emilim (GI absorption)
- Kan-beyin bariyeri geçirgenliği (BBB permeability)
- CYP450 enzimleri ile etkileşim (inhibisyon/indüksiyon potansiyeli)
- Hepatotoksisite, genotoksisite ve kardiyotoksisite tahminleri

Kullanılan bazı yazılımlar: SwissADME, pkCSM, admetSAR, ProTox-II

Toksisite yönünden pozitif sinyal veren bileşiklerin kimyasal iskeleti değiştirilerek, hedefe benzer bağlanma profili korunsa bile istenmeyen etkilerden arındırılması hedeflenir.

5.5 Moleküler Dinamik Simülasyonlarla Destekli Optimizasyon

Moleküler dinamik (MD) simülasyonları, optimize edilen ligandların hedef protein bağlanma bölgesindeki davranışını atomik düzeyde değerlendirme imkânı sunar. Özellikle:

- Kompleksin stabilitesi (RMSD, RMSF ölçümleri)
- Ligandın bağlanma enerjisi ve su molekülleri ile etkileşimleri
- Zaman içinde oluşan yeni bağların veya kopmaların analizi
- Allosterik etkilerin değerlendirilmesi

Bu analizler, sadece bağlanma anını değil, bağlanmanın sürekliliğini ve etkili konformasyonları da görmemizi sağlar. MD destekli optimizasyon, özellikle zor hedefler (örn. KRAS mutasyonları) için oldukça değerlidir (Pantsar, 2020).

5.6 Moleküler Onkolojide Hit-to-Lead Uygulamaları

Onkolojik hedefler genellikle karmaşık yapılar ve fonksiyonlara sahiptir. Hit-to-lead optimizasyonu ile:

- EGFR, BRAF, ALK gibi onkogenik proteinler için yüksek özgüllükte inhibitörler geliştirilmiştir.
- Selektivite artırılarak sağlıklı hücrelere etkiler azaltılmıştır.
- Kanser alt tiplerine göre özelleşmiş lead bileşikler tanımlanmıştır.
- Kombinasyon tedavilerine uygun yapıdalar tasarlanarak sinerjistik etki sağlanmıştır.

Sonuç olarak, H2L optimizasyonu moleküler onkolojide klinik başarıya giden yolda en kritik adımlardan biridir. Sanal tarama, QSAR ve yapısal biyoinformatik araçlarının entegrasyonu sayesinde bu süreç hem daha hızlı hem de daha isabetli hale gelmektedir (Vasilev & Atanasova, 2025).

6. Moleküler Dinamik Simülasyonların Rolü ve Uygulamaları

MD simülasyonları, moleküllerin zamana bağlı olarak nasıl davrandığını tahmin etmek amacıyla kullanılan atomik düzeyde güçlü bir hesaplamalı tekniktir. Rasyonel ilaç tasarımı, özellikle moleküler onkoloji alanında, ligand-hedef etkileşimlerinin detaylı biçimde anlaşılmasına olanak tanır. Statik bağlanma modellerinin ötesine geçerek, biyolojik sistemlerin esnekliğini, bağlanma stabilitesini ve konformasyonel değişimlerini analiz etmeye imkân sağlar (Dong & Hao, 2025).

6.1 Moleküler Dinamik Simülasyonun Temelleri

MD simülasyonları, moleküllerin klasik Newton fiziği kurallarına göre hareket ettiği varsayımıyla yürütülür. Sistemdeki her atomun konumu, hızı ve enerjisi hesaplanır ve bu sayede zaman içinde molekülün nasıl değiştiği gözlemlenir (Stroet vd., 2024).

Ana bileşenler:

- **Başlangıç yapısı:** Kristal yapılar (X-ray, Cryo-EM) veya modellenmiş protein-ligand kompleksleri
- **Kuvvet alanı (Force field):** Atomlar arası etkileşimleri tanımlayan matematiksel modeller (örneğin: AMBER, CHARMM, OPLS)
- **Simülasyon parametreleri:** Sıcaklık, basınç, iyonik ortam, zaman adımı (genellikle femtosaniye düzeyinde)
- **Solvasyon ve iyon ekleme:** Gerçek biyolojik ortamın modellenmesi için gerekli adımlardır.

6.2 Ligand-Protein Etkileşimlerinin Zamana Bağlı Analizi

Moleküler dinamik simülasyonları, docking analizinde elde edilen statik bağlanma pozisyonlarının doğruluğunu test eder ve zaman içinde bu etkileşimin sürdürülebilirliğini değerlendirir. Bu süreçte elde edilen bazı kritik veriler (Wu vd., 2024):

- **RMSD (Root Mean Square Deviation):** Kompleksin genel yapısal stabilitesini gösterir. Düşük RMSD, kararlı bağlanmaya işaret eder.

- **RMSF (Root Mean Square Fluctuation):** Protein zincirindeki hareketliliği bölgesel olarak gösterir.
- **Hidrojen bağlarının sayısı ve süresi:** Etkileşimlerin kararlılığına katkı sağlar.
- **Enerji değişimleri:** Kompleksin potansiyel enerjisindeki dalgalanmalar, bağlanma davranışını yansıtır.

Bu analizler, molekülün hedef proteine uygun bağlanıp bağlanmadığını ve ne kadar süre bu bağlanmayı koruyabildiğini gösterir.

6.3 Moleküler Onkolojiye Özgü Simülasyon Uygulamaları

Kanser biyolojisinde hedef proteinlerin yapısal esnekliği, MD simülasyonlarıyla detaylı şekilde analiz edilebilir. Bu simülasyonlar, protein-ligand etkileşimlerinin stabilitesini, bağlanma sürelerini ve dinamik davranışları zamana bağlı olarak inceler. Güncel çalışmalar, özellikle doğal bileşiklerin kanser hedeflerine bağlanma potansiyelini ve etkileşim sürekliliğini değerlendirmede MD simülasyonlarının önemini ortaya koymaktadır (Othman, Beigh & Albanghali, 2025).

Örnek uygulamalar şunlardır:

- **Ligandların bağlanma davranışlarının modellenmesi:** Berberin ve Ellagic Asit gibi doğal inhibitörlerin, kanser hedef proteinlerine bağlanma süreleri ve yeni bağ oluşumları MD simülasyonlarıyla gözlemlenebilir. Bu sayede bağlanma afinitesi ve kompleks stabilitesi değerlendirilir (Othman, Beigh & Albanghali, 2025).
- **Allosterik bölgelerin keşfi:** MD simülasyonları, doğrudan aktif bölgeye bağlanmayan fakat protein fonksiyonunu etkileyen allosterik bağlanma bölgelerinin tanımlanmasını sağlar.
- **Su moleküllerinin rolü:** Simülasyonlar, ligand-protein etkileşimlerinde kritik hidrojen bağları oluşturan su moleküllerinin bağlanma bölgesindeki katkılarını ortaya koyar.

Bu yöntemler sayesinde, kanser tedavisine yönelik doğal bileşiklerin hedef proteinlerle dinamik etkileşimleri detaylı olarak anlaşılır ve yeni ilaç geliştirme süreçleri için önemli veriler elde edilir (Othman, Beigh & Albanghali, 2025).

6.4 Simülasyon Sonuçlarının İlaç Tasarımına Katkısı

MD simülasyonları, ilaç tasarım sürecinin çeşitli aşamalarında kritik bilgiler sunarak karar alma süreçlerini yönlendirir (Bunker & Róg, 2020; Salo-Ahen vd., 2021):

- **Kararsız Bağlanan Bileşiklerin Elemesi:** MD simülasyonları, ligandların bağlanma bölgelerinde zamanla nasıl davrandığını göstererek, kararsız bağlanan bileşikleri eleyebilir.
- **Optimize Edilecek Fonksiyonel Grupların Belirlenmesi:** Simülasyonlar, ligandların bağlanma bölgelerinde etkileşimde bulundukları fonksiyonel grupları belirleyerek, bu grupların optimizasyonuna yönelik stratejiler geliştirilmesine yardımcı olur.
- **Enerjik Olarak Uygun Olmayan Konformasyonların Saptanması:** MD simülasyonları, ligandların farklı konformasyonlarını değerlendirerek, enerjik olarak uygun olmayan yapıları tanımlar ve bu yapıları eleyerek daha stabil bileşiklerin tasarımına olanak tanır.
- **Yeni Potansiyel Bağlanma Ceplerinin Keşfi:** Simülasyonlar, proteinlerin dinamik yapısı sayesinde, daha önce bilinmeyen bağlanma ceplerinin ortaya çıkmasını sağlar, bu da yeni hedeflerin keşfine katkı sunar.
- **İn Siliko Yapısal Optimizasyonlara Yön Verme:** MD simülasyonları, ligandların bağlanma bölgelerindeki etkileşimlerini analiz ederek, yapısal optimizasyon süreçlerine yön verir ve daha etkili ilaç adaylarının geliştirilmesine katkı sağlar.

MD simülasyonları, QSAR ve docking analizleriyle birleşerek, daha güvenilir ve hedef odaklı lead bileşiklerin geliştirilmesine olanak tanır. Bu entegrasyon, ilaç tasarım süreçlerini hızlandırır ve başarı oranını artırır.

7. Sonuç ve Gelecek Perspektif

Moleküler onkoloji alanında rasyonel ilaç tasarımı, geleneksel deneme-yanılma süreçlerinden çok daha hızlı ve hedefe yönelik stratejiler sunarak antikanser ilaç geliştirme sürecini dönüştürmüştür. Bu kitap bölümünde sanal tarama, QSAR modelleme, moleküler dinamik simülasyonlar ve hit-to-lead optimizasyonu gibi modern hesaplamalı yöntemlerin, onkolojik hedeflerin belirlenmesinden klinik öncesi aşamaya kadar uzanan çok boyutlu katkıları detaylı şekilde incelenmiştir.

Bu yaklaşımlar, özellikle hedef özgüllüğü yüksek, daha az toksik ve biyoyararlanımı yüksek bileşiklerin geliştirilmesinde önemli avantajlar sağlamaktadır. Moleküler hedeflerin üç boyutlu yapılarının doğru şekilde modellenmesi, bağlanma bölgesinin karakterize edilmesi ve ligand-protein etkileşimlerinin dinamik bağlamda değerlendirilmesi, ilaç adaylarının etkinliğini ve güvenliğini artırma potansiyelini beraberinde getirir.

Gelecek perspektifi açısından, yapay zekâ tabanlı modelleme sistemlerinin daha geniş veri kümeleriyle entegre edilmesi, biyomoleküler simölasyonların hızlandırılması ve yapay zekâ destekli çok parametrelili optimizasyon sistemlerinin geliştirilmesi beklenmektedir. Ayrıca, moleküler onkolojide kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarına yönelik olarak hastaya özü protein yapılarının ve genetik verilerin entegre edilmesi, rasyonel ilaç tasarımında yeni bir paradigma oluşturacaktır.

Sonuç olarak, hesaplamalı biyoloji ve yapay zekâ destekli tasarım stratejilerinin entegrasyonu, moleküler onkolojide daha etkili, hedeflenmiş ve güvenli terapötik ajanların geliştirilmesini mümkün kılmakta; bu da gelecekte kanser tedavisinin daha bireyselleştirilmiş ve etkili bir zemine oturmasını sağlamaktadır.

KAYNAKÇA

- Asim, A. (2024). Approaches to backbone flexibility in protein-protein docking. *In Methods in Molecular Biology* (Vol. 2780, pp. 45–68). https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3985-6_4
- Bolz, S. N., Adasme, M. F., & Schroeder, M. (2021). Toward an understanding of pan-assay interference compounds and promiscuity: A structural perspective on binding modes. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 61(5), 2248–2262. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.0c01227>
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., et al. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- Budziszewski, G. R., Stojanoff, V., & Bowman, S. E. J. (2025). Preparing for successful protein crystallization experiments. *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology Communications*, 81(7), 272–280. <https://doi.org/10.1107/S2053230X25004650>
- Bunker, A., & Róg, T. (2020). Mechanistic understanding from molecular dynamics simulation in pharmaceutical research 1: Drug delivery. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7, 604770. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.604770>
- Callaway, E. (2025). DeepMind's new AlphaGenome AI tackles the 'dark matter' in our DNA. *Nature*, 643, 17–18. <https://doi.org/10.1038/d41586-025-01998-w>
- Carlsson, J., & Lutten, A. (2024). Structure-based virtual screening of vast chemical space as a starting point for drug discovery. *Current Opinion in Structural Biology*, 87, 102829. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2024.102829>
- Chahat, N., Nainwal, N., Murti, Y., Yadav, S., Rawat, P., Dhiman, S., & Kumar, B. (2025). Advancements in targeting tumor suppressor genes (p53 and BRCA 1/2) in breast cancer therapy. *Molecular Diversity*, 29(3), 2691–2716. <https://doi.org/10.1007/s11030-024-10964-z>
- Dong, J., & Hao, X. (2025). Pharmacophore screening, molecular docking, and MD simulations for identification of VEGFR-2 and c-Met potential dual inhibitors. *Frontiers in Pharmacology*, 16, 1534707. <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1534707>
- Godhwani, A. (2025). The role of oncogenes in tumorigenesis: From discovery to therapy. *Journal of Medical Oncology and Therapeutics*, 10(1), 243.
- Gorgulla, C., Jayaraj, A., Fackeldey, K., & Arthanari, H. (2022). Emerging frontiers in virtual drug discovery: From quantum mechanical methods to deep

- learning approaches. *Current Opinion in Chemical Biology*, 69, 102156. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2022.102156>
- Guo, W., Liu, J., Dong, F., Song, M., Li, Z., Khan, M. K. H., Patterson, T. A., & Hong, H. (2023). Review of machine learning and deep learning models for toxicity prediction. *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*, 248(21), 1952–1973. <https://doi.org/10.1177/15353702231209421>
- Hazemann, J., Kimmerlin, T., Mac Sweeney, A., Bourquin, G., Lange, R., Ritz, D., Richard-Bildstein, S., Regeon, S., & Czodrowski, P. (2025). Accelerating the hit-to-lead optimization of a SARS-CoV-2 Mpro inhibitor series by combining high-throughput medicinal chemistry and computational simulations. *Journal of Medicinal Chemistry*, 68(8), 8269–8294. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.4c02941>
- He, H., Shao, X., Li, Y., Gihu, R., Xie, H., Zhou, J., & Yan, H. (2021). Targeting signaling pathway networks in several malignant tumors: Progresses and challenges. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 675675. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.675675>
- Király, P., Kiss, R., Kovács, D., Ballaj, A., & Tóth, G. (2022). The relevance of goodness-of-fit, robustness and prediction validation categories of OECD-QSAR principles with respect to sample size and model type. *Molecular Informatics*, 41(11), e2200072. <https://doi.org/10.1002/minf.202200072>
- Kudo, G., Hirao, T., Yoshino, R., Shigeta, Y., & Hirokawa, T. (2024). [Makale başlığı yok]. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 64(11), 4475–4484. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.3c02036>
- Li, J., Zhao, T., Yang, Q., Du, S., & Xu, L. (2025). A review of quantitative structure-activity relationship: The development and current status of data sets, molecular descriptors and mathematical models. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 256, 105278. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2024.105278>
- Ma, Q., Zhang, W., Wu, K., et al. (2025). The roles of KRAS in cancer metabolism, tumor microenvironment and clinical therapy. *Molecular Cancer*, 24, 14. <https://doi.org/10.1186/s12943-024-02218-1>
- Matrouk, A. Y., Mohammad, H., Daoud, S., & Taha, M. O. (2025). Computational discovery of novel HER2 inhibitors via pharmacophore modeling, molecular docking, and machine learning. *Molecular Informatics*, 44, e202400336. <https://doi.org/10.1002/minf.202400336>
- Mei, L., Wu, F., Hao, G., & Yang, G. (2021). Protocol for hit-to-lead optimization of compounds by auto in silico ligand directing evolution (AILDE) approach. *STAR Protocols*, 2(1), 100312. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2021.100312>

- Neto, L., Filho, J. T., Neves, B., Riveros Maidana, R., Guimarães, A., Furnham, N., Andrade, C., & Silva, F. (2020). In silico strategies to support fragment-to-lead optimization in drug discovery. *Frontiers in Chemistry*, 8, 93. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00093>
- Niu, Z., Xiao, X., Wu, W., et al. (2024). PharmaBench: Enhancing ADMET benchmarks with large language models. *Scientific Data*, 11, 985. <https://doi.org/10.1038/s41597-024-03793-0>
- Ocana, A., Pandiella, A., Privat, C., et al. (2025). Integrating artificial intelligence in drug discovery and early drug development: A transformative approach. *Biomarker Research*, 13, 45. <https://doi.org/10.1186/s40364-025-00758-2>
- Oli, B., Kaur, V., & Kumar, T. (2024). Revolutionizing drug discovery: A comprehensive review of computer-aided drug design approaches. *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology*, 12(7), 308–317. <https://doi.org/10.22214/ijraset.2024.63563>
- Othman, B., Beigh, S., Albanghali, M. A., et al. (2025). Comprehensive pharmacokinetic profiling and molecular docking analysis of natural bioactive compounds targeting oncogenic biomarkers in breast cancer. *Scientific Reports*, 15, 5426. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-84401-4>
- Pantsar, T. (2020). KRAS(G12C) –AMG 510 interaction dynamics revealed by all-atom molecular dynamics simulations. *Scientific Reports*, 10, 11992. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68950-y>
- Peplow, M. (2020). Cryo-electron microscopy reaches resolution milestone. *ACS Central Science*, 6(8), 1274–1277. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c01048>
- Pintér, G., Hohmann, K. F., Grün, J. T., Wirmer-Bartoschek, J., Glaubitz, C., Fürtig, B., & Schwalbe, H. (2021). Real-time nuclear magnetic resonance spectroscopy in the study of biomolecular kinetics and dynamics. *Magnetic Resonance*, 2, 291–320. <https://doi.org/10.5194/mr-2-291-2021>
- Roskoski, R. Jr. (2023). Rule of five violations among the FDA-approved small molecule protein kinase inhibitors. *Pharmacological Research*, 191, 106774. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2023.106774>
- Salo-Ahen, O. M. H., Alanko, I., Bhadane, R., Bonvin, A. M. J. J., et al. (2021). Molecular dynamics simulations in drug discovery and pharmaceutical development. *Processes*, 9(1), 71. <https://doi.org/10.3390/pr9010071>
- Sazonova, E. V., Yaprntseva, M. A., Pervushin, N. V., Tsvetov, R. I., Zhivotovsky, B., & Kopeina, G. S. (2024). Cancer drug resistance: Targeting proliferation or programmed cell death. *Cells*, 13(5), 388. <https://doi.org/10.3390/cells13050388>

- Sciabola, S., Torella, R., Nagata, A., & Boehm, M. (2022). Critical assessment of state-of-the-art ligand-based virtual screening methods. *Molecular Informatics*, 41(11), e2200103. <https://doi.org/10.1002/minf.202200103>
- Stroet, M., Setz, M., Lee, T., Malde, A. K., van den Bergen, G., Sykacek, P., Oostenbrink, C., & Mark, A. E. (2024). On the validation of protein force fields based on structural criteria. *Journal of Physical Chemistry B*, 128(19), 4602–4620. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.3c08469>
- Tran, T. T. V., Tayara, H., & Chong, K. T. (2023). Recent studies of artificial intelligence on in silico drug distribution prediction. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 1815. <https://doi.org/10.3390/ijms24031815>
- Vasilev, B., & Atanasova, M. (2025). A (comprehensive) review of the application of quantitative structure–activity relationship (QSAR) in the prediction of new compounds with anti-breast cancer activity. *Applied Sciences*, 15(3), 1206. <https://doi.org/10.3390/app15031206>
- Wang, Z., Zheng, L., Wang, S., Lin, M., Wang, Z., Kong, A. W.-K., Mu, Y., Wei, Y., & Li, W. (2023). A fully differentiable ligand pose optimization framework guided by deep learning and a traditional scoring function. *Briefings in Bioinformatics*, 24(1), bbac520. <https://doi.org/10.1093/bib/bbac520>
- Wu, N., Zhang, R., Peng, X., Fang, L., Chen, K., & Jestilä, J. S. (2024). Elucidation of protein–ligand interactions by multiple trajectory analysis methods. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 26(12), 6903–6915. <https://doi.org/10.1039/d3cp03492e>
- Yuan, J.-H., Han, S. B., Richter, S., Wade, R. C., & Kokh, D. B. (2020). Druggability assessment in TRAPP using machine learning approaches. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 60(3), 1685–1699. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b01185>
- Zhang, X., Shen, C., Jiang, D., et al. (2023). TB-IECS: An accurate machine learning-based scoring function for virtual screening. *Journal of Cheminformatics*, 15, 63. <https://doi.org/10.1186/s13321-023-00731-x>



BÖLÜM 3

Asendan Aort Anevrizmasında miRNA'ların Rolü

Fatma Hande Karpuzoğlu¹

1. Aort anevrizması (AA)

1.1 Tanım ve Klinik Önemi

Aortun lokalize veya yaygın dilatasyonu olarak tanımlanan AA, damar çapının beklenen normal boyutun 1,5 katından fazla olması ile karakterizedir [1]. Yıllar içerisinde anevrizma tanı ve tedavi yöntemlerinde önemli ilerlemeler kaydedilmiş olsa da, bu hastalıkla ilişkili morbidite ve mortalite oranları hâlâ yüksek seyretmektedir. En ciddi klinik komplikasyon akut disseksiyon olup, bu durumda mortalite riski oldukça yüksektir [2]. Güncel tedavi yaklaşımları arasında aortun yapay greft ile değiştirilmesini içeren açık cerrahi yöntemler ve endovasküler girişimler yer almaktadır [3]. Ancak AA'nın önlenmesi veya ilerleyişinin durdurulmasına yönelik farmakolojik tedavilerin etkinliği sınırlıdır ve kesin bir çözüm sunmamaktadır.

1.2 Tanı ve Tedavi Yöntemlerindeki Gelişmeler

Özellikle 20. yüzyılın ikinci yarısından itibaren anjiyografi, bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans gibi görüntüleme yöntemlerinin yaygınlaşması ve cerrahi tekniklerdeki ilerlemeler, anevrizma tanı ve tedavisinde büyük bir dönüşüm yaratmıştır. Disseksiyon veya rüptür gerçekleşmeden, anevrizmanın büyüklüğüne göre planlı uygulanan önleyici cerrahiler ile mortalite ve morbidite oranlarının düşmesi amaçlanmaktadır. Günümüzde genetik ve moleküler biyoloji alanındaki çalışmalar, hastalığın anatomik olduğu kadar biyolojik temellerinin de anlaşılmasına katkı sağlamaktadır [4-6].

1.3 Patogenez

1.3.1 Moleküler ve Hücresel Mekanizmalar

Aort anevrizması (AA) gelişimi, bir dizi moleküler ve hücresel mekanizmanın etkileşimi ile şekillenir. Endotel disfonksiyonu ve kronik inflamasyon, damar duvarında başlatıcı rol oynar. Vasküler düz kas hücrelerinde (VSMC) fenotip değişimi ve apoptoz, duvarın yapısal bütünlüğünü zayıflatır. Ekstraselüler matriks (ECM) degradasyonu, elastin ve kollajen liflerinin kaybına yol açarak aort duvarını gevşetir. Bu süreçler, inflamatuvar hücreler (makrofajlar ve lenfositler) tarafından salgılanan sitokinler ile desteklenir: IL-1 β , IL-6, TNF- α ve

¹ Dr. Öğr. Üyesi, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı
ORCID: 0000-0001-9603-5838

MCP-1, matriks metalloproteinazlar (MMP-2 ve MMP-9) aktivasyonunu tetikleyerek VSMC apoptozunu artırır ve ECM yıkımını hızlandırır. MMP aktiviteleri, dokuda bulunan inhibitörler tarafından kısmen kontrol edilir.

1.3.2 Matriks Metalloproteinaz İnhibitörleri (TIMP'ler)

Özellikle matriks metalloproteinaz inhibitörleri (TIMP'ler) kritik bir düzenleyici rol oynar. TIMP-1, pro-MMP-9 ile kompleks oluşturarak bağlanır ve MMP-9 aktivitesini düzenler. TIMP-2, pro-MMP-2 ile kompleks oluşturarak MMP-2 aktivitesini kontrol eder [7–16].

1.3.3 Genetik ve Çevresel Faktörler

Sporadik aort anevrizmalarının karmaşık patofizyolojik mekanizmaları göz önüne alındığında, gen ekspresyonunun düzenlenmesi dikkat çekici bir özellik olarak öne çıkmaktadır [17–19]. Bu durum, genetik yatkınlığın yanı sıra diyet, enfeksiyonlar, ilaç ve alkol kullanımı ile sedanter yaşam tarzı gibi değiştirilebilir çevresel faktörlerin etkileşiminin bir sonucu olarak değerlendirilmektedir [20–27]. Ayrıca erkek cinsiyet, 65 yaş üzeri olmak ve sigara öyküsü başlıca risk faktörleri arasında kabul edilmektedir [17–19,28]

1.4 Sınıflama ve Risk Faktörleri

1.4.1 Anatamik Sınıflama

Aort anevrizmaları, anatomik yerleşimlerine göre temel olarak abdominal aort anevrizmaları (AAA) ve torasik aort anevrizmaları (TAA) şeklinde sınıflandırılmaktadır. TAA'lar ise asendan aort, arkus aorta ve desendan aort olmak üzere alt gruplara ayrılmaktadır. AAA, abdominal aortun en sık infrarenal segmentinde görülen genişlemesi olup ateroskleroz ile güçlü ilişkilidir. Buna karşın Asendan aort anevrizması (AsAA), torasik aortun kalpten çıkan asendan bölümünde gelişir ve daha çok genetik faktörler ile bağ dokusu bozukluklarıyla ilişkilidir.

1.4.2 Bölgeye Göre Risk Faktörleri

Her ne kadar bazı risk faktörleri her iki bölge için ortak olsa da, AAA ve AsAA gelişiminde öne çıkan faktörler farklılık göstermektedir. AAA'da ateroskleroz, sigara kullanımı ve erkek cinsiyet baskın risk faktörleridir; inflamasyon ve matriks metalloproteinaz aktivitesi patogeneizde belirleyici rol oynar. AsAA'da ise genetik yatkınlık, hipertansiyon ve konjenital bağ dokusu hastalıkları (ör. Marfan ve Loeys-Dietz sendromları) daha belirgindir ve aterosklerozun etkisi görece sınırlıdır [24,29,30].

1.4.2.1 Asendan Aort Anevrizması (AsAA)

1.4.2.1.1 Klinik Özellikleri ve Embriyonik Farklılıklar

AsAA çoğunlukla klinik olarak sessizdir ve aterosklerozdan bağımsız olarak gelişir; abdominal aort anevrizmalarından farklı olarak, olumsuz dejenerasyon ve aort duvarının yeniden şekillenmesi (remodeling) sürecinde ortaya çıkar. Bu farklılık, çıkan aort ile abdominal aortun embriyonik kökenlerinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Çıkan aort ve aortik ark segmentleri nöral krista hücrelerinden köken alırken, abdominal aort mezodermal prekürsör hücrelerden gelişir [17, 31].

Aortun farklı segmentleri, ekstrasellüler matriks (ECM) mikrofibril yoğunluğu ve vasküler düz kas hücrelerinin (VSMC) büyüme faktörlerine verdiği yanıt bakımından heterojenlik gösterir. Bu farklılıklar, anevrizma gelişimine karşı farklı duyarlılıklarla sonuçlanmaktadır. Çıkan aort segmenti, özellikle orta yaş bireylerde belirginleşen vasküler yaşlanmaya daha yatkındır ve bu süreç medial dejenerasyon ile karakterizedir.

1.4.2.1.2 Mikroskopik ve Mekanik Değişiklikler

Mikroskopik olarak AsAA şunlarla karakterizedir

- Endotel disfonksiyonu,
- Artmış oksidatif stres
- İnflamatuvar hücre infiltrasyonu
- VSMC apoptozu
- Elastin fragmentasyonu ve ECM bozulması

Bu değişiklikler, aort elastikiyetinin azalmasına ve sonuçta damar genişlemesine yol açar. Mekanik genişleme kuvvetleri ECM ve kollajene aktarılır; bu da kollajen yeniden yapılanmasına, damarın sertleşmesine ve uyum yeteneğinin azalmasına neden olur. Artan aort sertliği ise sistolik basıncı, tepe basıncını ve kalbin iş yükünü artırır [17, 31].

1.4.2.1.3 Ailesel ve Sporadik Formlar

AsAA, ailesel ve sporadik formlar olarak sınıflandırılabilir. Ailesel formlar, genellikle VSMC, ECM proteinleri veya TGF- β , Notch, TLR4 gibi belirli sinyal yollarında işlev gören proteinlerdeki genetik varyantlarla ilişkilidir. Bu gruba Marfan (MFS), Loeys-Dietz (LDS), vasküler Ehlers-Danlos (vEDS) sendromları ile biküspit aort kapağı (BAV) sendromu dahildir [27, 29, 30, 32]. Sporadik AsAA ise daha çok ileri yaş bireylerde ve hipertansiyon gibi vasküler komorbiditeleri olanlarda görülür. Mevcut tedaviler, antihipertansif ilaçlar gibi spesifik olmayan seçeneklerle sınırlıdır; bu nedenle çoğu hasta cerrahi onarıma

ihtiyaç duyar. Elektif cerrahilerde mortalite %1–5 arasında değişirken, acil cerrahilerde bu oran %12’ye kadar çıkmaktadır [29, 33, 34, 35].

1.4.2.1.4 Fenotipik Değişkenlik ve Prognoz

AsAA’nın tipik bir özelliği fenotipik değişkenliğin yüksek olmasıdır. Aynı genetik varyant, farklı bireylerde farklı klinik sonuçlara yol açabilir [27]. Bu durum prognozun öngörülmesini zorlaştırmakta ve hem klinisyenler, hem de hastalar için belirsizlik oluşturmaktadır [29, 32, 36-38]. Dolayısıyla, yüksek riskli AsAA hastalarının erken belirlenmesi, tedaviye yanıtın izlenmesi ve daha spesifik terapötik stratejilerin geliştirilmesi kritik öneme sahiptir. Bu bağlamda, epigenetik mekanizmaların aydınlatılması umut vadetmektedir [39, 40]. Son yıllarda birçok çalışma, AsAA patofizyolojisinde epigenetik mekanizmaların rolünü ortaya koymuştur [41-44].

2. Epigenetik Mekanizmalar: Kodlamayan RNA’lar (ncRNA):

Epigenetik düzenleme; DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve kodlamayan RNA’ları (ncRNA) kapsar [42]. 1980’de Cech ve Altman’ın RNA’ların katalitik aktivite gösterebildiğini ortaya koyması, RNA biyolojisine yeni bir boyut kazandırmış ve ribozim kavramını literatüre kazandırmıştır. Bu buluş, RNA’nın yalnızca genetik bilginin taşıyıcısı değil, aynı zamanda biyokimyasal reaksiyonlarda aktif bir katalizör olabileceğini göstermiştir.

1990’lı yıllarda yapılan çalışmalar ise, RNA moleküllerinin düzenleyici rollerini ortaya koymuş ve “gen ekspresyonunun kontrolünde RNA tabanlı mekanizmalar” kavramını gündeme taşımıştır [45]. Bu süreç, merkezi dogmanın (DNA → RNA → Protein) klasik anlayışını genişletmiş, RNA’nın yalnızca ara bir ürün değil, doğrudan hücresel işlevlerin belirleyicisi olabileceği kabul edilmiştir.

Günümüzde ncRNA’ların, sınırlı sayıda proteinle etkileşerek kromatin düzenlenmesi, transkripsiyon kontrolü, RNA kırılması, translasyonun düzenlenmesi, mRNA stabilitesi ve hücresel stres yanıtları gibi pek çok süreçte işlev gösterdiği bilinmektedir [46, 47]. Bu nedenle günümüzde ncRNA’lar, hücresel metabolizmanın temel düzenleyici elemanlarından biri olarak kabul edilmektedir.

ncRNA’lar genel olarak iki ana gruba ayrılır: (i) housekeeping ncRNA’lar (ribozomal RNA [rRNA], transfer RNA [tRNA], küçük nükleer ve nükleolar RNA [snRNA, snoRNA]) ve (ii) düzenleyici ncRNA’lar. Düzenleyici ncRNA’lar ise yapısal özelliklerine ve uzunluklarına göre küçük ncRNA’lar (miRNA,

siRNA, piRNA, tsRNA) ve uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA) olarak sınıflandırılır [48] (Tablo 1).

Tablo 1. Kodlamayan RNA'ların sınıflandırılması ve örnekleri

Kodlamayan RNA	Alt Tipleri	Örnekler
Yapısal RNA	rRNA	rRNA
	tRNA	tRNA
	snRNA	snRNA
	snoRNA	snoRNA
Düzenleyici RNA	Kısa (<200 nt)	miRNA, siRNA, piRNA, scaRNA
	Uzun (>200 nt)	lncRNA, circRNA

2.1 Uzun Kodlamayan RNA'lar (lncRNA – long noncoding RNA)

lncRNA'lar, genellikle 200 nükleotid'den uzun, protein kodlamayan RNA molekülleridir. Yapısal olarak mRNA'lara benzeyen fakat açık okuma çerçevesi (ORF) bulunmayan bu RNA'lar, çekirdek ve sitoplazmada çeşitli mekanizmalarla gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynar [49].

lncRNA'lar, kromatini değiştiren enzimlere bağlanarak aktivitelerini genomun özel bölgelerine yönlendirir ve transkripsiyon faktörlerini etkileyerek hedef genlerin baskılanmasını veya aktivasyonunu sağlar. Ayrıca mRNA işlenmesi ve translasyon sonrası düzenlemede rol alır, bazı durumlarda miRNA süngerisi olarak hareket ederek miRNA'nın hedef mRNA'ya bağlanmasını engeller [50]. lncRNA'lar hücre siklüsü kontrolü, apoptoz, diferensiyasyon, proliferasyon ve nükleer organizasyon gibi çeşitli süreçlerde görev alır. Bazı lncRNA'lar onkogenik, bazıları ise tümör baskılayıcı olarak işlev görür ve epigenetik, transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel düzenlemelerde protein kompleksleri veya kofaktörlere bağlanabilir [50–53].

2.2 Küçük Kodlamayan RNA'lar (sncRNA)

sncRNA'lar, 19–28 nükleotid uzunluğunda ve protein kodlamayan RNA'lardır. Temel görevleri gen susturulmasında ve hücrel sinyal yollarının düzenlenmesinde rol almaktır. Bu grup, miRNA, siRNA, piRNA ve tsRNA gibi alt türleri içerir [54].

2.2.1 MikroRNA'lar (miRNA)

miRNA'lar, 22 baz uzunluğunda, protein kodlamayan RNA molekülleridir ve gelişim, farklılaşma, apoptoz ve proliferasyon gibi süreçlerde rol oynar. miRNA'lar, hedef mRNA'nın 3'UTR, 5'UTR veya ORF bölgelerine bağlanarak mRNA'yı baskılar veya parçalayarak translasyonu engeller [55–57]. Protein kodlayan genlerin en az %30'unu düzenleyerek hücresel süreçleri kontrol ettikleri öne sürülmektedir [58].

miRNA'ların adlandırılması şu şekilde yapılır: “Hsa” Homo sapiens'i, “mir” pre-miRNA'yı, “miR” olgun miRNA'yı temsil eder. Sayısal değerler, o zamana kadar tanımlanmış miRNA sayısını gösterir; a ve b harfleri, benzer dizilere sahip fakat küçük farklılıklar içeren miRNA'lar için kullanılır. 3p ve 5p ekleri, aynı pre-miRNA'nın 3' veya 5' ucundan köken aldığını belirtir [59].

miRNA'lar mikropartiküller ve eksozomlar aracılığıyla hücreler arasında taşınabilir, bu da onları RNaz aktivitesine karşı korur ve stabiliteğini artırır [60–62]. Bazı miRNA'lar, DNA/RNA bağlayıcı proteinlerle etkileşerek bozulmayı önler [63]. Ayrıca miRNA'lar dışkı, balgam, plevral efüzyon ve idrarda tespit edilebilir, bu da ekspresyon değişikliklerinin kolayca gözlemlenmesini sağlar [64].

miRNA'ların düzensiz ekspresyonu, tümörlerde proliferatif sinyalleme sürmesine, hücre ölümüne direnç göstermesine ve metastaz ile anjiyogenezin aktive olmasına yol açabilir. Belirli koşullar altında miRNA'lar onkogenik veya tümör baskılayıcı işlev gösterebilir [65, 66].

miRNA biyosentezi klasik yolla üç aşamada gerçekleşir:

- a) Pri-miRNA transkripsiyonu (RNA pol II/III aracılığıyla)
- b) Pri-miRNA'dan pre-miRNA'ya dönüşüm (Drosha ve DGCR8 kompleksi ile)
- c) Pre-miRNA'nın sitoplazmaya taşınıp Dicer ile olgun miRNA'ya dönüşümü, ardından Argonaute (AGO) proteini ile miRNA aracılı susturucu kompleksi (miRSC) oluşumu [67].

miRNA oluşumu Drosha, Dicer, DGCR8, Argonaute, eksportin 5 ve diğer düzenleyici proteinler tarafından kontrol edilir; bu proteinlerdeki değişiklikler miRNA'ların anormal ekspresyonuna neden olabilir [68]. miRNA'lar gelişim, farklılaşma ve fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde önemli olduğu gibi, düzensiz ekspresyonları çeşitli hastalıkların oluşumunda rol oynar [69, 70].

miRNA'ların kardiyovasküler fonksiyonların düzenlenmesinde kritik rol oynadığı gösterilmiştir [71]. Bununla birlikte, bu moleküllerin AsAA dahil olmak üzere kardiyovasküler hastalıkların tanısında biyobelirteç olarak veya tedavi hedefi olarak kullanımı henüz tam olarak tanımlanmamıştır [72]. Dolayısıyla,

miRNA'ların kardiyovasküler hastalıklardaki rolünün daha iyi anlaşılması, AsAA için yeni prognostik faktörlerin belirlenmesine ve daha spesifik tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir. Aşağıda, ailesel ve sporadik AsAA formlarında miRNA'ların rolüne ilişkin güncel bulgular özetlenmiştir.

2.2.1.1 Ailesel AsAA'da miRNA'ların Düzenleyici Rolü

BAV (biküspid aort kapağı) veya MFS (Marfan sendromu) hastalarında, triküspid aort kapağı (TAV) olan bireylere kıyasla daha erken dönemde ATAA ve disseksiyon gelişme riski yüksektir [73]. Bu tür ailesel ATAA formlarında genetik faktörlerin yanı sıra miRNA'ların da patogeneizde önemli rol oynadığı gösterilmiştir.

Örneğin, Maleki ve arkadaşları, BAV aortopatilerinde miRNA'ların rolünü sistem biyolojisi yaklaşımıyla incelemiş ve özellikle miR-200 ailesinin BAV ile ilişkili sinyal ağlarında kritik rol oynadığını ortaya koymuştur [73]. Endotel hücrelerinden köken alan miR-200c'nin, BAV aortalarından elde edilen hücrelerde TAV'a kıyasla daha düşük ekspresyona sahip olduğu bildirilmiştir. miR-200 ailesi, End-MT sürecinde görevli transkripsiyon faktörleri ZEB1 ve ZEB2'nin baskılanmasında rol alır [74, 75]. BAV'da miR-200c düzeylerinin azalması, End-MT sürecinin miR-200c aracılı mekanizmalarla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Benzer şekilde, Pisano ve arkadaşları (76), BAV ve TAV hastalarına ait aort dokularını inceleyerek, BAV olgularında miR-126-5p düzeylerinin arttığını ve bunun SMAD2/3 proteinlerinin baskılanması ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, BAV anevrizmalarında belirgin kalsifikasyon gözlenirken, TAV anevrizmalarında belirgin fibrozis saptanmıştır. Bu bulgular, miR-126-5p'nin BAV ve TAV aortopatilerinde farklı doku yeniden şekillenmelerine aracılık ettiğini ve biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Wu ve ark. (77), BAV hastalarında aort dilatasyonunun erken evrelerinde miR-17'nin TIMP-1 ve TIMP-2'yi baskılayarak MMP aktivitesini artırdığını bildirmiştir. Bu durum ECM yıkımını kolaylaştırarak aort genişlemesine katkıda bulunur. miR-17'nin erken evrede artış göstermesi, hedeflenmesinin dilatasyonun ilerlemesini önleyebileceğini göstermektedir.

Pisano ve ark. (33) ise miR-486'nın hem aort dokularında hem de kan örneklerinde artmış olduğunu ve bunun mediyal dejenerasyon derecesi ile ilişkili bulunduğunu bildirmiştir. Bu nedenle miR-486, aort duvar dejenerasyonunu non-invaziv olarak izlemek için potansiyel bir biyobelirteç olarak önerilmektedir.

Girdauskas ve ark. [78], BAV hastalarında nadir NOTCH1 varyantlarının, miR-145'in düşük ekspresyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu durum,

genetik varyantlarla belirli miRNA bozuklukları arasında bağlantı olduğunu ortaya koymaktadır.

Zhang ve ark. [79] ise BAV hastalarının kan örneklerinde eksozom kaynaklı miR-423-5p'nin artmış olduğunu ve SMAD2 üzerinden TGF- β sinyal yolunun bozulmasıyla ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu durum, BAV hastalığının ve komplikasyonlarının patogenezinde kritik öneme sahiptir.

MFS ise TGF- β sinyal yolunun aşırı aktivasyonu karakteristiktir. Merk ve ark. [80], MFS farelerinde miR-29b'nin arttığını ve ECM bozuklukları ile ilişkili olduğunu, bu miRNA'nın inhibisyonunun ise anevrizma gelişimini engelleyebildiğini göstermiştir. Benzer şekilde, Terriaca ve ark. [81], MFS hastalarında miR-632'nin arttığını ve bunun DNAJB6 inhibisyonu üzerinden End-MT ve fibrozisi artırdığını raporlamıştır.

Zhang ve ark. [82], MFS hastalarında ve fare modellerinde miR-122'nin baskılandığını, bunun da inflamatuvar sitokinler (CCL2, IL-1 β) ve MMP-12 artışı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu durum, elastin yıkımı ve aort dilatasyonuna katkıda bulunur.

2.2.1.2 Sporadik AsAA'da miRNA'ların Düzenleyici Rolü

Sporadik AsAA'nın moleküler mekanizmaları ailesel formlara göre daha az anlaşılmıştır [83]. Genellikle ileri yaşta görülür ve multifaktöriyel etiyolojiye sahiptir [84]. Bu olgular çoğunlukla asemptomatiktir ve genellikle cerrahi endikasyon boyutuna ulaştığında rastlantısal olarak saptanır [85]. Bu nedenle, sporadik AsAA için erken tanı ve hastalık progresyonunun izlenmesinde kullanılabilecek non-invaziv biyobelirteçlerin belirlenmesi önemlidir. Moushi ve ark. [85], sporadik AsAA hastalarının plazma örneklerinde, cerrahi öncesinde üç miRNA'nın (miR-140-5p, miR-191-5p ve miR-214-3p) anlamlı derecede arttığını göstermiştir. Bu miRNA'ların TGF- β sinyal yolundaki MTMR4 ve PPP1CB genlerini hedeflediği doğrulanmıştır. Çalışma pilot nitelikte olsa da, bu miRNA'ların biyobelirteç potansiyeli taşıdığı ileri sürülmüştür. Karpuzoğlu ve ark.ları [86] çalışmalarında sporadik AsAA hastalarında koroner bypass hastalarına kıyasla miR181a düzeylerinin anlamlı derecede arttığını bulmuşlardır.

Gasiulê ve ark. [87] ise sporadik AsAA hastalarında hem aort dokularında hem de plazmada 17 farklı miRNA ekspresyon değişikliği bildirmiştir. Bunlardan özellikle miR-155b-5p, miR-122-3p ve miR-23b-5p'nin cerrahi sonrası normal düzeylere dönmesi, hastalığa özgü olduklarını düşündürmektedir. Bu miRNA'ların TGF- β reseptörleri, SMAD proteinleri ve KLF4 ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Tablo 2).

Özetle; AsAA hem ailesel hem de sporadik formlarda önemli oranda morbidite ve mortaliteye neden olan, kompleks patofizyolojik mekanizmalara sahip bir hastalıktır. Araştırmalar, bu mekanizmalarda özellikle miRNA'ların gen ekspresyonu düzenlenmesi ve hücrel fonksiyonların modülasyonu gibi kritik düzenleyici rollerinin olduğunu ortaya koymaktadır.

Ancak kardiyovasküler çalışmalarda mevcut bulguların klinik uygulamaya aktarılmasında bazı sınırlılıklar vardır. Çalışmalar arasında standardizasyon eksikliği, miRNA değişiklikleri ile klinik özelliklerin korelasyonundaki yetersizlikler ve biyobelirteçlerin geniş hasta gruplarında doğrulanamamış olması en önemli engellerdendir. Ayrıca, miRNA temelli tedavilerin güvenlik ve etkinliği henüz kanıtlanmamıştır. Gelecek araştırmaların; epigenetik mekanizmalarla etkileşimler, farklı AsAA fenotiplerine özgül miRNA profilleri ve terapötik yaklaşımların klinik potansiyeli üzerine odaklanması büyük ölçüde hedefe yönelik tedavi ve hastalığın spesifik tanısı için büyük önem arz etmektedir.

Sonuç olarak, miRNA'lar AsAA'nın erken tanısı, risk sınıflandırması ve hedefe yönelik tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde kullanılabilecek biyobelirteçler olarak umut vadetmektedir. Bununla beraber, klinik pratiğe yansıyabilmesi için daha fazla translasyonel araştırmaya ve klinik doğrulama çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Tablo 2. AsAA'da miRNA ekspresyonları, hedef genleri ve patojenetik mekanizmaları

miRNA	Düzenlenme durumu	Çalışılan örnekler	İlişkili genler / hedefler	Önerilen patojenetik mekanizma	AsAA tipi	Kaynak
miR-200c	Azalmış ekspresyon	İnsan aort dokusu ve endotel hücreleri	ZEB1, ZEB2	Endotel-mezenkimal dönüşüm (End-MT)	BAV	Maleki ve ark., 2019
miR-126-5p	Artmış ekspresyon	İnsan aort dokusu	SMAD2/3	Kalsifikasyon süreçleri	BAV	Pisano ve ark., 2022a
miR-17	Artmış ekspresyon	İnsan aort dokusu	TIMP-1, TIMP-2	ECM yıkımı ve aort genişlemesi	BAV	Wu ve ark., 2016
miR-486	Artmış ekspresyon	İnsan aort dokusu ve kan örnekleri	Belirtilmemiş	Aort yeniden şekillenmesi, apoptoz	BAV	Pisano ve ark., 2021a
miR-145	Azalmış ekspresyon	İnsan kan örnekleri	NOTCH1 varyantları	VSMC proliferasyonu ve fenotip değişimi	BAV	Girdauskas ve ark., 2018
miR-423-5p	Artmış ekspresyon	İnsan kan örnekleri	SMAD2	TGF- β sinyalleme bozukluğu, anjiyogenez	BAV	Zhang ve ark., 2021
miR-29b	Artmış ekspresyon	Fare aort dokusu	NF- κ B, kaspaz-3/-9, Mcl-1, Bcl-2	Apoptoz ve ECM bozuklukları	MFS	Merk ve ark., 2012
miR-632	Artmış ekspresyon	İnsan aort dokusu	DNAJB6	End-MT ve fibrozis	MFS	Terriaca ve ark., 2023
miR-122	Azalmış ekspresyon	İnsan ve fare aort dokusu	CCL2, IL-1 β , MMP-12	İnflamasyon ve ECM yeniden şekillenmesi	MFS	Zhang ve ark., 2022
miR-140-5p, miR-191-5p, miR-214-3p	Artmış ekspresyon (ameliyat öncesi)	İnsan aort dokusu ve ameliyat öncesi/sonrası kan örnekleri	MTMR4, PPP1CB	TGF- β sinyal bozukluğu	Sporadik	Moushi ve ark., 2020
miR-155b-5p, miR-122-3p, miR-23b-5p	Hem artış hem azalış	İnsan aort dokusu ve ameliyat öncesi/sonrası kan örnekleri	TGF- β reseptörleri, SMAD'ler, KLF4	VSMC fenotip değişimi	Sporadik	Gasiulê ve ark., 2019

Referanslar:

1. JCS Joint Working Group. (2013). Guidelines for diagnosis and treatment of aortic aneurysm and aortic dissection (JCS 2011): Digest version. *Circulation Journal*, 77(3), 789–828. <https://doi.org/10.1253/circj.cj-66-0057>
2. Isselbacher, E. M., Preventza, O., Black, J. H. III, Augoustides, J. G., Beck, A. W., Bolen, M. A., Braverman, A. C., Bray, B. E., Brown-Zimmerman, M. M., Chen, E. P., Collins, T. J., DeAnda, A., Fanola, C. L., Girardi, L. N., Hicks, C. W., Hui, D. S., Jones, W. S., Kalahasti, V., Kim, K. M., ... Woo, Y. J. (2022). 2022 ACC/AHA Guideline for the Diagnosis and Management of Aortic Disease: A Report of the American Heart Association/American College of Cardiology Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*, 146(24), E334–E482. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001106>
3. Sultan, S., Concannon, J., Veerasingam, D., Tawfick, W., McHugh, P., Jordan, F., & Hynes, N. (2022). Endovascular versus conventional open surgical repair for thoracoabdominal aortic aneurysms. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2022(4), CD012926. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012926.pub2>
4. Wilmink, A. B., Forshaw, M., Quick, C. R., Hubbard, C. S., & Day, N. E. (2002). Accuracy of serial screening for abdominal aortic aneurysms by ultrasound. *Journal of Medical Screening*, 9(3), 125–127. <https://doi.org/10.1136/jms.9.3.125>
5. Chaikof, E. L., Dalman, R. L., Eskandari, M. K., Jackson, B. M., Lee, W. A., Mansour, M. A., Mastracci, T. M., et al. (2018). The Society for Vascular Surgery practice guidelines on the care of patients with an abdominal aortic aneurysm. *Journal of Vascular Surgery*, 67(1), 2–77.e72. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2017.10.044>
6. Rudd, J. H. (2010). The role of 18F-FDG PET in aortic dissection. *Journal of Nuclear Medicine*, 51(5), 667–668. <https://doi.org/10.2967/jnumed.109.072355>
7. Sampilvanjil, A., et al. (2020). Cigarette smoke extract induces ferroptosis in vascular smooth muscle cells. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 318(3), H508–H518. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00559.2019>
8. Wagenseil, J. E., & Mecham, R. P. (2009). Vascular extracellular matrix and arterial mechanics. *Physiological Reviews*, 89(3), 957–989. <https://doi.org/10.1152/physrev.00041.2008>
9. Jana, S., Hu, M., Shen, M., & Kassiri, Z. (2019). Extracellular matrix, regional heterogeneity of the aorta, and aortic aneurysm. *Experimental & Molecular Medicine*, 51(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s12276-019-0286-3>

10. Gurung, R., Choong, A. M., Woo, C. C., Foo, R., & Sorokin, V. (2020). Genetic and epigenetic mechanisms underlying vascular smooth muscle cell phenotypic modulation in abdominal aortic aneurysm. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 6334. <https://doi.org/10.3390/ijms21176334>
11. Airhart, N., et al. (2014). Smooth muscle cells from abdominal aortic aneurysms are unique and can independently and synergistically degrade insoluble elastin. *Journal of Vascular Surgery*, 60(4), 1033–1041. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2013.07.097>
12. Nagase, H., Visse, R., & Murphy, G. (2006). Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovascular Research*, 69(3), 562–573. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2005.12.002>
13. Koole, D., et al. (2013). Intraluminal abdominal aortic aneurysm thrombus is associated with disruption of wall integrity. *Journal of Vascular Surgery*, 57(1), 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2012.07.003>
14. Chute, M., Jana, S., & Kassiri, Z. (2018). Disintegrin and metalloproteinases (ADAMs and ADAM-TSs), the emerging family of proteases in heart physiology and pathology. *Current Opinion in Physiology*, 1, 34–45. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.122.17963>
15. Silence, J., Collen, D., & Lijnen, H. R. (2002). Reduced atherosclerotic plaque but enhanced aneurysm formation in mice with inactivation of the tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) gene. *Circulation Research*, 90(8), 897–903. <https://doi.org/10.1161/01.res.0000016501.56641.83>
16. Defawe, O., et al. (2003). TIMP-2 and PAI-1 mRNA levels are lower in aneurysmal as compared to athero-occlusive abdominal aortas. *Cardiovascular Research*, 60(1), 205–213. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(03\)00513-3](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(03)00513-3)
17. Balistreri, C. R. (2015). Genetic contribution in sporadic thoracic aortic aneurysm? Emerging evidence of genetic variants related to TLR-4-mediated signaling pathway as risk determinants. *Vascular Pharmacology*, 74, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2015.09.006>
18. Pisano, C., Balistreri, C. R., Ricasoli, A., & Ruvoilo, G. (2017). Cardiovascular disease in ageing: An overview on thoracic aortic aneurysm as an emerging inflammatory disease. *Mediators of Inflammation*, 2017, 1274034. <https://doi.org/10.1155/2017/1274034>
19. Saeyeldin, A. A., Velasquez, C. A., Mahmood, S. U. B., Brownstein, A. J., Zafar, M. A., Ziganshin, B. A., et al. (2019). Thoracic aortic aneurysm: Unlocking the "silent killer" secrets. *General Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 67(1), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11748-017-0874-x>

20. Zhou, S. S., Jin, J. P., Wang, J. Q., Zhang, Z. G., Freedman, J. H., Zheng, Y., et al. (2018). miRNAs in cardiovascular diseases: Potential biomarkers, therapeutic targets and challenges. *Acta Pharmacologica Sinica*, 39(7), 1073–1084. <https://doi.org/10.1038/aps.2018.30>
21. Downey, R. T., & Aron, R. A. (2022). Thoracic and thoracoabdominal aneurysms: Etiology, epidemiology, and natural history. *Anesthesiology Clinics*, 40(4), 671–683. <https://doi.org/10.1016/j.anclin.2022.08.011>
22. Zhou, Z., Cecchi, A. C., Prakash, S. K., & Milewicz, D. M. (2022). Risk factors for thoracic aortic dissection. *Genes*, 13(10), 1814. <https://doi.org/10.3390/genes13101814>
23. Bararu, I. B. B., Pleșoianu, C. E., Badulescu, O. V., Vladeanu, M. C., Badescu, M. C., Iliescu, D., et al. (2023). Molecular and cellular mechanisms involved in aortic wall aneurysm development. *Diagnostics (Basel)*, 13(2), 253. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13020253>
24. Chung, J. C. (2023). Pathology and pathophysiology of the aortic root. *Annals of Cardiothoracic Surgery*, 12(3), 159–167. <https://doi.org/10.21037/acs-2023-avs1-17>
25. Crousillat, D., Briller, J., Aggarwal, N., Cho, L., Coutinho, T., Harrington, C., et al. (2023). Sex differences in thoracic aortic disease and dissection: JACC review topic of the week. *Journal of the American College of Cardiology*, 82(9), 817–827. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2023.05.067>
26. Dong, C. X., Malecki, C., Robertson, E., Hambly, B., & Jeremy, R. (2023). Molecular mechanisms in genetic aortopathy—Signaling pathways and potential interventions. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2), 1795. <https://doi.org/10.3390/ijms24021795>
27. Salmasi, M. Y., Alwis, S., Cyclewala, S., Jarral, O. A., Mohamed, H., Mozalbat, D., et al. (2023). The genetic basis of thoracic aortic disease: The future of aneurysm classification? *Hellenic Journal of Cardiology*, 69, 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.hjc.2022.09.009>
28. Hayder, H., O'Brien, J., Nadeem, U., & Peng, C. (2018). MicroRNAs: Crucial regulators of placental development. *Reproduction*, 155(6), R259–R271. <https://doi.org/10.1530/REP-17-0603>
29. Asano, K., Cantalupo, A., Sedes, L., & Ramirez, F. (2022). Pathophysiology and therapeutics of thoracic aortic aneurysm in Marfan syndrome. *Biomolecules*, 12(1), 128. <https://doi.org/10.3390/biom12010128>
30. Dietz, H. C., Loey, B., Carta, L., & Ramirez, F. (2005). Recent progress towards a molecular understanding of Marfan syndrome. *American Journal of*

- Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*, 139(1), 4–9.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.c.30068>
31. Waldron, C. Z., Ziganshin, M. A., Weininger, B. A., Grewal, G., Elefteriades, N., & Evidence Accumulates, J. A. (2023). Evidence accumulates: Patients with ascending aneurysms are strongly protected from atherosclerotic disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 15640. <https://doi.org/10.3390/ijms242115640>
 32. Carbone, R. G., Monselise, A., & Puppo, F. (2023). Marfan syndrome and aortic involvement: A narrative review. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 27(17), 8218–8224. https://doi.org/10.26355/eurev_202309_33582
 33. Pisano, C., Gammazza, A. M., Rappa, F., Barone, R., Allegro, R., Pitruzzella, A., et al. (2021). Medial tunica degeneration of the ascending aortic wall is associated with specific microRNA changes in bicuspid aortic valve disease. *Molecular Medicine Reports*, 24(6), 876. <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.12516>
 34. Pisano, C., Polisano, D., Balistreri, C. R., Altieri, C., Nardi, P., Bertoldo, F., et al. (2021). Role of cachexia and fragility in the patient candidate for cardiac surgery. *Nutrients*, 13(2), 517. <https://doi.org/10.3390/nu13020517>
 35. Nardi, P., Pisano, C., Bassano, C., Bertoldo, F., Salvati, A. C., Buioni, D., et al. (2023). Bentall operation: Early surgical results, seven-year outcomes, and risk factors analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(1), 212. <https://doi.org/10.3390/ijerph20010212>
 36. Balistreri, C. R. (2018). Bicuspid aortic valve disease: A simple embryonic defect or a complex syndrome? Paradigm or certainty? *Annals of Cardiology and Vascular Medicine*, 1, 1003. <https://doi.org/10.33582/2639-4383/1003>
 37. Balistreri, C. R., Forte, M., Greco, E., Paneni, F., Cavarretta, E., Frati, G., et al. (2019a). An overview of the molecular mechanisms underlying development and progression of bicuspid aortic valve disease. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 132, 146–153. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2019.05.013>
 38. Balistreri, C. R., Cavarretta, E., Sciarretta, S., & Frati, G. (2019b). Light on the molecular and cellular mechanisms of bicuspid aortic valve to unveil phenotypic heterogeneity. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 133, 113–114. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2019.06.004>
 39. Kim, H. W., & Stansfield, B. K. (2017). Genetic and epigenetic regulation of aortic aneurysms. *BioMed Research International*, 2017, 7268521. <https://doi.org/10.1155/2017/7268521>

40. Magouliotis, D. E., Sicouri, S., Sicouri, N., Baudo, M., Cabrucci, F., Yamashita, Y., & Ramlawi, B. (2025). Epigenetic biomarkers in thoracic aortic aneurysm, dissection, and bicuspid aortopathy: A comprehensive review. *Biomolecules*, *15*(4), 568. <https://doi.org/10.3390/biom15040568>
41. Chakraborty, A., Li, Y., Zhang, C., Li, Y., Rebello, K. R., Li, S., et al. (2023). Epigenetic induction of smooth muscle cell phenotypic alterations in aortic aneurysms and dissections. *Circulation*, *148*(12), 959–977. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.123.063332>
42. Han, Y., Chen, C., & Zhang, J. (2023). Editorial: Epigenetic mechanisms and epigenetic-based therapies in cardiometabolic and vascular disease. *Frontiers in Genetics*, *14*, 1233096. <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1233096>
43. Rega, S., Farina, F., Bouhuis, S., de Donato, S., Chiesa, M., Poggio, P., et al. (2023). Multi-omics in thoracic aortic aneurysm: The complex road to the simplification. *Cell & Bioscience*, *13*(1), 131. <https://doi.org/10.1186/s13578-023-01080-w>
44. Tao, Y., Li, G., Yang, Y., Wang, Z., Wang, S., Li, X., et al. (2023). Epigenomics in aortic dissection: From mechanism to therapeutics. *Life Sciences*, *335*, 122249. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.122249>
45. Mattick, J. S., & Makunin, I. V. (2006). Non-coding RNA. *Human Molecular Genetics*, *15*(suppl_1), R17–R29. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl046>
46. Jarroux, J., Morillon, A., & Pinskaya, M. (2017). History, discovery, and classification of lncRNAs. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 1008, pp. 1–46). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-10-5203-3_1
47. Yates, L. A., Norbury, C. J., & Gilbert, R. J. C. (2013). The long and short of microRNA. *Cell*, *153*(3), 516–519. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.04.003>
48. Derrien, T., Johnson, R., Bussotti, G., Tanzer, A., Djebali, S., Tilgner, H., ... & Guigó, R. (2012). The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: Analysis of their gene structure, evolution, and expression. *Genome Research*, *22*(9), 1775–1789. <https://doi.org/10.1101/gr.132159.111>
49. Wu, M., Fu, P., Qu, L., Zhang, J., & Li, X. (2020). Long noncoding RNAs, new critical regulators in cancer immunity. *Frontiers in Oncology*, *10*, 550987. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.550987>
50. Mattick, J. S., Amaral, P. P., Carninci, P., Chang, H. Y., Chen, L. L., Chen, R., ... Rinn, J. L. (2023). Long non-coding RNAs: Definitions, functions, challenges and recommendations. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *24*(6), 430–447. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00566-8>
51. Li, J., & Liu, C. (2019). Coding or noncoding, the converging concepts of RNAs. *Frontiers in Genetics*, *10*, 496. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00496>

52. Tsagakis, I., Douka, K., Birds, I., et al. (2020). Long non-coding RNAs in development and disease: Conservation to mechanisms. *The Journal of Pathology*, 250(5), 480–495. <https://doi.org/10.1002/path.5405>
53. Yousefi, H., Maheronnaghsh, M., & Molaei, F. (2020). Long noncoding RNAs and exosomal lncRNAs: Classification, and mechanisms in breast cancer metastasis and drug resistance. *Oncogene*, 39(6), 953–974. <https://doi.org/10.1038/s41388-019-1040-y>
54. Romano, G., Veneziano, D., Acunzo, M., & Croce, C. M. (2017). Small non-coding RNA and cancer. *Carcinogenesis*, 38(5), 485–491. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgx026>
55. Treiber, T., Treiber, N., & Meister, G. (2012). Regulation of microRNA biogenesis and function. *Thrombosis and Haemostasis*, 107(4), 605–610. <https://doi.org/10.1160/TH11-12-0836>
56. Curtis, H. J., Sibley, C. R., & Wood, M. J. A. (2012). Mirtrons, an emerging class of atypical miRNA. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, 3(5), 617–632. <https://doi.org/10.1002/wrna.1122>
57. Bartel, D. P. (2004). MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116(2), 281–297. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(04\)00045-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(04)00045-5)
58. Lewis, B. P., Burge, C. B., & Bartel, D. P. (2005). Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*, 120(1), 15–20. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.12.035>
59. Enright, A. J., & Griffiths-Jones, S. (2008). miRBase: A database of microRNA sequences, targets and nomenclature. In K. Appasani (Ed.), *MicroRNAs: From basic science to disease biology* (pp. 157–171). Cambridge University Press.
60. Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A., Sjöstrand, M., Lee, J. J., & Lötvall, J. O. (2007). Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nature Cell Biology*, 9(6), 654–672. <https://doi.org/10.1038/ncb1596>
61. Brase, J. C., Wuttig, D., Kuner, R., & Sülthmann, H. (2010). Serum microRNAs as non-invasive biomarkers for cancer. *Molecular Cancer*, 9, 306. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-9-306>
62. O'Brien, J., Hayder, H., Zayed, Y., & Peng, C. (2018). Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 402. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00402>

63. Yu, Z., & Hecht, N. B. (2008). The DNA/RNA-binding protein, Translin, binds microRNA122a and increases its in vivo stability. *Journal of Andrology*, 29(5), 572–579. <https://doi.org/10.2164/jandrol.108.005090>
64. Xiao, Y., Yong, X., Fan, Y., Lü, M., Yang, S., & Hu, C. (2013). microRNA detection in feces, sputum, pleural effusion and urine: Novel tools for cancer screening (Review). *Oncology Reports*, 30(2), 535–544. <https://doi.org/10.3892/or.2013.2525>
65. Chen, Y., Fu, L. L., Wen, X., Liu, B., Huang, J., Wang, J. H., & Wei, Y. Q. (2014). Oncogenic and tumor suppressive roles of microRNAs in apoptosis and autophagy. *Apoptosis*, 19(7), 1177–1189. <https://doi.org/10.1007/s10495-014-0999-7>
66. Peng, Y., Croce, C. M., & et al. (2016). The role of microRNAs in human cancer. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 1, 15004. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2015.4>
67. O'Brien, J., Hayder, H., Zayed, Y., & Peng, C. (2018). Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 402. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00402>
68. Peng, Y., & Croce, C. M. (2016). The role of microRNAs in human cancer. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 1, 15004. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2015.4>
69. Winter, J., Jung, S., Keller, S., Gregory, R. I., & Diederichs, S. (2009). Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation. *Nature Cell Biology*, 11(3), 228–234. <https://doi.org/10.1038/ncb0309-228>
70. Yang, J. S., & Lai, E. C. (2011). Alternative miRNA biogenesis pathways and the interpretation of core miRNA pathway mutants. *Molecular Cell*, 43(6), 892–903. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2011.08.017>
71. Abubakar, M., Hajjaj, M., Naqvi, Z. E. Z., Shanawaz, H., Naeem, A., Padakanti, S. S. N., et al. (2023). Non-coding RNA-mediated gene regulation in cardiovascular disorders: Current insights and future directions. *Journal of Cardiovascular Translational Research*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s12265-023-10469-4>
72. Stougiannou, T. M., Christodoulou, K. C., Georgakarakos, E., Mikroulis, D., & Karangelis, D. (2023). Promising novel therapies in the treatment of aortic and visceral aneurysms. *Journal of Clinical Medicine*, 12(18), 5878. <https://doi.org/10.3390/jcm12185878>

73. Maleki, S., Cottrill, K. A., Poujade, F. A., Bhattachariya, A., Bergman, O., Gădin, J. R., et al. (2019). The miR-200 family regulates key pathogenic events in ascending aortas of individuals with bicuspid aortic valves. *Journal of Internal Medicine*, 285(1), 102–114. <https://doi.org/10.1111/joim.12833>
74. Brabletz, S., & Brabletz, T. (2010). The ZEB/miR-200 feedback loop—a motor of cellular plasticity in development and cancer? *EMBO Reports*, 11(9), 670–677. <https://doi.org/10.1038/embor.2010.117>
75. Hill, L., Browne, G., & Tulchinsky, E. (2013). ZEB/miR-200 feedback loop: At the crossroads of signal transduction in cancer. *International Journal of Cancer*, 132(4), 745–754. <https://doi.org/10.1002/ijc.27708>
76. Pisano, C., Benedetto, U., Ruvolo, G., & Balistreri, C. R. (2022). Oxidative stress in the pathogenesis of aorta diseases as a source of potential biomarkers and therapeutic targets, with a particular focus on ascending aorta aneurysms. *Antioxidants (Basel)*, 11(2), 182. <https://doi.org/10.3390/antiox11020182>
77. Wu, J., Song, H. F., Li, S. H., Guo, J., Tsang, K., Tumati, L., et al. (2016). Progressive aortic dilation is regulated by miR-17-associated miRNAs. *Journal of the American College of Cardiology*, 67(25), 2965–2977. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.04.027>
78. Girdauskas, E., Petersen, J., Neumann, N., Ungelenk, M., Kurth, I., Reichensperner, H., et al. (2018). MiR-145 expression and rare NOTCH1 variants in bicuspid aortic valve-associated aortopathy. *PLoS One*, 13(7), e0200205. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200205>
79. Zhang, H., Liu, D., Zhu, S., Wang, F., Sun, X., Yang, S., et al. (2021). Plasma exosomal miR-423-5p is involved in the occurrence and development of bicuspid aortopathy via TGF- β /SMAD2 pathway. *Frontiers in Physiology*, 12, 759035. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.759035>
80. Merk, D. R., Chin, J. T., Dake, B. A., Maegdefessel, L., Miller, M. O., Kimura, N., et al. (2012). miR-29b participates in early aneurysm development in Marfan syndrome. *Circulation Research*, 110(2), 312–324. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.111.253740>
81. Terriaca, S., Scioli, M. G., Pisano, C., Ruvolo, G., Ferlosio, A., & Orlandi, A. (2023). miR-632 induces DNAJB6 inhibition stimulating endothelial-to-mesenchymal transition and fibrosis in Marfan syndrome aortopathy. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(20), 15133. <https://doi.org/10.3390/ijms242015133>
82. Zhang, R. M., Tiedemann, K., Muthu, M. L., Dinesh, N. E. H., Komarova, S., Ramkhalawon, B., et al. (2022). Fibrillin-1-regulated miR-122 has a critical role in thoracic aortic aneurysm formation. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 79(6), 314. <https://doi.org/10.1007/s00018-022-04337-8>

83. El-Hamamsy, I., & Yacoub, M. H. (2009). Cellular and molecular mechanisms of thoracic aortic aneurysms. *Nature Reviews Cardiology*, 6(12), 771–786. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2009.191>
84. Shen, Y. H., & LeMaire, S. A. (2017). Molecular pathogenesis of genetic and sporadic aortic aneurysms and dissections. *Current Problems in Surgery*, 54(3), 95–155. <https://doi.org/10.1067/j.cpsurg.2017.01.001>
85. Moushi, A., Pillar, N., Keravnou, A., Soteriou, M., Shomron, N., Cariolou, M. A., et al. (2020). MicroRNAs in ascending thoracic aortic aneurysms. *Bioscience Reports*, 40(7), BSR20200218. <https://doi.org/10.1042/BSR20200218>
86. Karpuzoğlu, F. H., Çalışkan, R., Gümüş, Ş. N., et al. (2025). Expression patterns and clinical relevance of H19, miR-181a-3p, and TGF- β in ascending aortic aneurysms: A comparative analysis of human aortic tissue. *Molecular Biology Reports*, 52, 635. <https://doi.org/10.1007/s11033-025-10740-8>
87. Gasiulė, S., Stankevičius, V., Patamsytė, V., Ražanskas, R., Žukovas, G., Kapustina, Ž., et al. (2019). Tissue-specific miRNAs regulate the development of thoracic aortic aneurysm: The emerging role of KLF4 network. *Journal of Clinical Medicine*, 8(10), 1609. <https://doi.org/10.3390/jcm8101609>



BÖLÜM 4

Takviye Edici Gıdalarda Papain Enziminin Kullanımı

Handan Mert¹

1. Giriş

Papain, sistein proteazlar (EC 3.4.22.2) sınıfına ait, bitkisel kökenli bir enzimdir ve literatürde papaya proteinaz I olarak da adlandırılır. Enzim, Carica papaya bitkisinin özellikle olgunlaşmamış meyvelerinden ve bitki sapının lateks kısmından elde edilir. Papaya lateksi, papain açısından en zengin kaynaktır ve ticari üretimde temel hammadde olarak kullanılır.

Papainin yapısında yaklaşık 212 amino asit bulunur. Enzim, aktif merkezinde yer alan sistein (Cys-25) ve histidin (His-159) rezidülerine dayanan bir tiyol proteaz olup, bu iki rezidü proteolitik aktivitenin “nükleofilik saldırı” basamağında görev yapar. Bu mekanizmada, elektron fazlasına sahip bir nükleofil, elektron eksikliğine sahip karbon atomuna elektron çifti vererek bağ oluşturur. Enzim ayrıca asparagin (Asn-175) ile stabilize edilmiş bir katalitik triad yapısına sahiptir. Bu yapı sayesinde papain, hem yüksek özgüllük hem de geniş substrat yelpazesiyle çeşitli proteinleri parçalayabilmektedir.

2. Biyokimyasal Özellikler

Papain, aktif merkezindeki tiyol (–SH) grubu aracılığıyla katalitik aktivite gösterir ve peptit bağlarını hidrolize ederek proteinleri küçük peptitlere ve serbest amino asitlere ayırır. Özellikle hidrofobik amino asitlerin (glisin, alanin, valin vb.) bulunduğu bölgelerde yüksek özgüllük sergiler (Rawlings ve Barrett, 1994).

Papainin geniş pH aralığında (3–9) aktif kalabilmesi, hem mide asidik ortamında hem de ince bağırsak gibi nötr-hafif alkali ortamlarda işlevini sürdürmesini sağlar. Bu nedenle protein sindirimi yalnızca midede değil, bağırsaklarda da devam eder (Turk vd., 2012).

Enzim 60 °C'ye kadar aktivitesini koruyabilir; ancak yüksek sıcaklıklarda denatürasyona uğrar. Şeker veya polialkoller gibi stabilizatörlerle formüle edildiğinde ısıya karşı direncinin arttığı bildirilmiştir (Molehin vd., 2015).

Bitkisel kökeni nedeniyle vejetaryen ve vegan beslenme için uygundur ve hayvansal proteazlara (ör. tripsin, kimotripsin, pepsin) doğal bir alternatif sunar. Lateks alerjisi olan bireylerde ise alerjik reaksiyon riski bulunabilir (Posadzki vd.,

¹ Prof. Dr., Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, ORCID:0000-0001-9827-7996

2013). Papain genellikle 23–24 kDa molekül ağırlığına sahip tek zincirli bir polipeptittir ve Cys–His–Asn katalitik triadı içeren tipik bir sistein proteazdır (Baker ve Drenth, 1987).

Bu biyokimyasal özellikleri sayesinde papain, yalnızca sindirim sisteminde değil, aynı zamanda et yumuşatma, bira berraklaştırma, süt pıhtılaştırma gibi gıda endüstrisinde ve protein hidrolizatları, yara iyileştirici topikal ürünler gibi farmasötik alanlarda da kullanılmaktadır (Azarkan vd., 2003; Molehin vd., 2015).

3. Gıdalarda ve Takviye Edici Gıdalardaki Kullanım

Papain, hem gıda teknolojisi hem de takviye edici gıda formülasyonlarında yaygın kullanım alanına sahiptir. Et endüstrisinde, kas liflerini parçalayıp etin yumuşaklığını artırır (Bickerstaff, 2016). Bira üretiminde, depolama sırasında oluşan protein bulanıklığını önleyerek berraklık sağlar. Süt ürünlerinde, özellikle peynir üretiminde pıhtılaştırıcı ajan olarak kullanılır.

Takviye edici gıdalarda ise papain, protein sindirimine destek amacıyla formülasyonlara eklenir. Proteinleri küçük peptitlere ve amino asitlere ayırarak sindirimi kolaylaştırır, özellikle pankreatik enzim sekresyonu yetersiz bireylerde veya protein ağırlıklı diyet uygulayanlarda yararlı olabilir (Frazier ve Westhoff, 2018).

Papain, çiğ papaya meyvesinin beyaz lateks sıvısından elde edilen ve proteinleri parçalayan (proteaz sınıfı) bir enzimdir. Enfeksiyonlarla savaşma ve yara iyileşmesini destekleme potansiyeline sahip olsa da, bu etkileri doğrulayan güçlü bilimsel kanıtlar bulunmamaktadır. Papain ağız yoluyla alındığında genellikle gıdalarda güvenli kabul edilir ve tıbbi amaçla günde 1200 mg’a kadar, 9 haftaya dek kullanımı “muhtemelen güvenli” olarak değerlendirilmiştir; ancak yüksek dozlarda boğaz ve mide tahrişi riski taşır. Deri üzerine uygulandığında çözelti formu kısa süreli kullanımlarda güvenli sayılırken, ham papaya veya ham papain teması deri irritasyonu ve su toplamasına yol açabilir. Hamilelik döneminde kullanımının düşük veya doğum kusuru riskini artırabileceği, emzirme döneminde ise yeterli veri bulunmadığı belirtilmiştir. Ayrıca incir veya kivi alerjisi olan kişilerde çapraz alerji riski mevcuttur. Papain, warfarin gibi kan sulandırıcı ilaçlarla etkileşime girerek kanama riskini artırabilir; bu nedenle dikkatli kullanılmalıdır (Webmd, 2025).

Travma veya ameliyat sonrası ödem ve iltihap, boğaz ağrısı, zona (herpes zoster) ve sindirim zorlukları gibi durumlarda destekleyici olarak kullanılmakta, ayrıca gıda ve kozmetik endüstrisinde de değerlendirilmektedir. Ancak bu etkilerin çoğu için bilimsel kanıtlar sınırlıdır (RxList, 2025).

Papain, vejetaryen ve vegan diyetlerde hayvansal proteazlara alternatif sunar. Genellikle bromelain gibi bitkisel proteazlarla birlikte kapsül, tablet veya toz formunda takviye ürünlerinde yer alır (Posadzki et al., 2013).

4. Güvenlik ve Mevzuat

Papainin güvenliği, çeşitli ülkelerdeki düzenleyici kurumlarca değerlendirilmiştir. İtalya ve Fransa gibi ülkelerde papain için belirlenmiş bir üst alım limiti bulunmamakla birlikte, uzun süreli kullanımı güvenli kabul edilmiştir (VKM, 2021). EFSA (2020), yüksek doz alımların mide mukozasında irritasyon oluşturabileceğini ve lateks alerjisi olan kişilerde alerjik reaksiyon riskinin dikkate alınması gerektiğini belirtmiştir.

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), “Papain ve sindirim sistemi yararları” başlıklı ID 4691 numaralı sağlık beyanı başvurusunu değerlendirmiş ve uygun bulmamıştır. EFSA’nın “Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to papain and digestive system benefits” adlı raporunda, papainin protein sindirimine veya genel sindirim fonksiyonlarına katkı sağladığına dair sunulan bilimsel kanıtların yetersiz ve tutarsız olduğu belirtilmiştir. Değerlendirme sonucunda, papainin sindirime yardımcı olduğuna ilişkin beyanın, Avrupa Parlamentosu ve Konsey’in 1924/2006/EC sayılı Yönetmeliği kapsamında bilimsel olarak yeterince desteklenmediği ve bu nedenle yetkilendirilmemiş sağlık beyanı olarak sınıflandırıldığı ifade edilmiştir (EFSA, 2011).

Papain, Avrupa gıda enzimleri düzenlemesi (EC No. 1332/2008) kapsamında değerlendirilmekte olup, takviye edici gıdalarda kullanım için kaynağının, saflığının ve üretim yönteminin açıkça tanımlanması gerekmektedir.

Genellikle 50–500 mg/gün aralığında kullanılır; bu doz, enzimin aktivitesine göre (ör. USP Unit, TU) standardize edilir (Frazier ve Westhoff, 2018).

5. Papainin Endüstriyel Eldesi

Papain, Carica papaya meyvesinin kabuk ve sap lateksinden elde edilir. Lateks sıvısı toplanır, ardından spray-drying veya dondurarak kurutma (lyofilizasyon) işlemleriyle toz hâline getirilir. Ürüne genellikle taşıyıcı olarak maltodekstrin eklenir (McDonald ve Tipton, 2020).

Doğal papaya üretimi ekonomik olduğundan, sentetik üretim veya rekombinant mikrobiyal sentez endüstriyel ölçekte tercih edilmez. Papain, takviye ürünlerde bitkisel kökenli doğal enzim olarak yer almakta ve sıklıkla bromelainle birlikte sindirim enzimi kompleksleri şeklinde formüle edilmektedir (Posadzki et al., 2013).

6. Sonuç

Sonuç olarak papain, bitkisel kaynaklı, güvenli ve biyolojik olarak aktif bir enzimdir. Geniş pH aralığında etkinliğini koruyabilmesi ve proteinleri küçük peptitlere ayırma kapasitesi sayesinde sindirim sürecine doğal destek sağlar. Bu özellikleriyle papain, özellikle protein sindirimi yetersizliği, vejetaryen beslenme veya yüksek proteinli diyet uygulayan bireylerde yararlı bir takviye bileşeni olarak değerlendirilmektedir. Bitkisel kökeni ve hayvansal proteazlara kıyasla düşük alerjenik potansiyeli, onu güvenli bir alternatif hâline getirmektedir. Ancak lateks alerjisi olan bireylerde dikkatli kullanılmalıdır. EFSA ve ulusal otoritelerin değerlendirmeleri, önerilen doz aralıklarında papainin güvenli, iyi tolere edilen ve etkin bir takviye bileşeni olduğunu desteklemektedir.

Kaynakça

Azarkan, M., Wintjens, R., Looze, Y., & Baeyens-Volant, D. (2003). Detection of three wound-induced proteins in papaya latex. *Phytochemistry*, 62(3), 527–536.

Baker, E. N., & Drenth, J. (1987). The structure of papain: The evolution of a cysteine proteinase. *Acta Crystallographica Section B*, 43(2), 186–190.

Bickerstaff, G. F. (2016). *Enzymes in food processing (4th ed.)*. CRC Press.

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). (2011). *Scientific opinion on the substantiation of health claims related to papain and maintenance of a normal function of the digestive system (ID 4691) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006*. *EFSA Journal*, 9(6), 2228. Frazier, W. C., & Westhoff, D. C. (2018). *Food microbiology (6th ed.)*. McGraw-Hill Education.

<https://www.webmd.com/vitamins/ai/ingredientmono-69/papain#overview> (Erişim Tarihi; 13.10.2025)

<https://www.rxlist.com/supplements/papain.htm> (Erişim Tarihi; 13.10.2025)

McDonald, A. G., & Tipton, K. F. (2020). Enzyme purification and characterization in the food industry. *Comprehensive Biotechnology*, 4(1), 85–104.

Molehin, O. R., Oladokun, O. B., & Oladipo, A. H. (2015). Stabilization of papain activity with sugar and polyol additives. *Journal of Food Biochemistry*, 39(3), 285–292.

Posadzki, P., Watson, L., & Ernst, E. (2013). Adverse effects of herbal medicines: An overview of systematic reviews. *Clinical Medicine*, 13(1), 7–12.

Rawlings, N. D., Barrett, A. J. (1994). Families of cysteine peptidases. *Methods in Enzymology*, 244, 461–486.

Turk, B., Turk, D., & Turk, V. (2012). Protease signalling: The cutting edge. *EMBO Journal*, 31(7), 1630–1643.

VKM (Norwegian Scientific Committee for Food and Environment). (2021). *Risk assessment of papain in food supplements*. VKM Report 2021:15.



BÖLÜM 5

Prolil Oligopeptidaz Enziminin Takviye Edici Gıdalarda Kullanımı

Handan Mert¹

1.GİRİŞ

Enzimler, gıda endüstrisinde işlem basamaklarının iyileştirilmesi, ürünlerin duyuusal veya fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi ve biyoyararlanımın artırılması amacıyla yaygın biçimde kullanılmaktadır. Takviye edici gıdalarda ise enzimler yalnızca yardımcı bileşen olarak değil, sahip oldukları biyoaktif özellikler sayesinde doğrudan etken madde olarak değerlendirilmektedir.

Bu enzimlerden biri olan prolil oligopeptidaz (POP; EC 3.4.21.26), serin proteaz ailesine ait bir endopeptidaz olup “prolil endopeptidaz” adıyla da bilinmektedir. Enzim, özellikle prolin kalıntısı içeren peptit bağlarını seçici biçimde hidrolize etme kapasitesi sayesinde hem sindirim fizyolojisinde hem de nörolojik süreçlerde rol oynamaktadır. POP’un bu çift yönlü etkisi (bir yandan substrat hidrolizi, diğer yandan nörotransmitter metabolizmasının düzenlenmesi) onu takviye edici gıdalarda dikkat çeken biyoaktif bir bileşen hâline getirmiştir.

2. PROLİL OLİGOPEPTİDAZ ENZİMİNİN YAPISI VE ÖZELLİKLERİ

Prolil oligopeptidaz, diğer adlarıyla prolin-spesifik endopeptidaz veya endoprolilpeptidaz, yaklaşık 710 amino asit kalıntısından oluşan ve ortalama 80 kDa moleküler ağırlığa sahip bir sitozolik proteazdır. S9 peptidaz ailesi içinde sınıflandırılan bu enzim, prolin kalıntısının karboksil ucundaki peptit bağlarını özgül biçimde kesme yeteneğine sahiptir (Polgar, 2002).

Yapısal olarak POP, birbirini tamamlayan iki ana domen içerir:

β -pervane (β -propeller) domeni, N-terminal bölgede yer alır ve substratın aktif bölgeye erişimini kısıtlayarak yalnızca yaklaşık 30 amino asitten kısa peptitlerin bağlanmasına izin verir.

α/β -hidrolaz domeni, C-terminal uçta bulunur ve burada yer alan katalitik üçlü (Ser–His–Asp) peptit bağlarının hidrolizinden sorumludur.

Bu iki domen arasındaki yapısal etkileşim, enzimin substrat özgüllüğünü belirler ve özellikle gluten gibi prolin açısından zengin peptitlerin parçalanmasında kritik rol oynar (Dunaevsky vd., 2020; Fülöp vd., 1998).

¹ Prof. Dr., Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, ORCID:0000-0001-9827-7996

İnsanlarda POP başlıca beyin, karaciğer ve böbrek dokularında bulunur. Endüstriyel üretimde ise çoğunlukla *Aspergillus niger* veya bakteriyel suşlardan (*Flavobacterium meningosepticum*) elde edilmektedir. Farklı bitki ve hayvan türlerinde de homolog enzimlerin bulunması, bu proteazın evrimsel olarak korunmuş bir enzim ailesine ait olduğunu göstermektedir.

3. TAKVİYE EDİCİ GIDALARDA KULLANILAN POP ENZİMİNİN KAYNAKLARI

Takviye edici gıdalarda kullanılan prolil oligopeptidaz, genellikle mikrobiyal fermentasyon yoluyla üretilmektedir. Endüstride en yaygın olarak kullanılan ve düzenleyici kurumlarca değerlendirilmiş kaynak *Aspergillus niger*'dir. Bu mikroorganizmadan elde edilen asidik prolil endopeptidaz (AN-PEP) formu, mide pH'sında stabil kalabilme özelliği nedeniyle ön plana çıkmaktadır (EFSA, 2017).

Ayrıca *Trichoderma reesei* DP-Nyq99 suşundan üretilen prolil oligopeptidazın güvenlik değerlendirmesi, EFSA Panel on Food Enzymes (FEZ) tarafından yapılmış ve enzimin canlı hücre veya rekombinant DNA içermediği, mevcut kullanım koşullarında güvenli olduğu bildirilmiştir (EFSA Panel on Food Enzymes, 2025).

Bununla birlikte, Food Standards Australia New Zealand (FSANZ) da, genetik olarak modifiye edilmiş *T. reesei* kaynaklı POP'un bira ve benzeri fermente içeceklerde işleme yardımcısı (processing aid) olarak kullanılmasına izin vermiştir.

Avrupa Birliği'nde, *Aspergillus niger* kaynaklı proline-spesifik oligopeptidaz (Tolerase® G) için yapılan yeni gıda başvurusu, EFSA NDA Paneli (2017) tarafından değerlendirilmiş ve bu enzimin gıda takviyelerinde 120 PPU/gün (yaklaşık 2,7 g/gün enzim preparatı) düzeyinde kullanımının güvenli olduğu sonucuna varılmıştır. Bu görüş sonrasında Avrupa Komisyonu, 2017/2470 sayılı Uygulama Tüzüğü ile enzimi Birlik Yeni Gıdalar Listesi'ne dahil etmiştir (European Commission, 2017).

Birleşik Krallık'ta ise FSA (2025) tarafından yürütülen "Regulated Food and Feed Products for Great Britain" sisteminde, aynı enzim NOVEL-117 koduyla yetkilendirilmiş ve yetişkinler için 120 PPU/gün limitinin geçerli olduğu belirtilmiştir.

4. KULLANIM LİMİTLERİ VE GÜVENLİK DEĞERLENDİRMESİ

Prolil oligopeptidaz (POP) ve benzer enzimler, özellikle çölyak hastalığı tanısı almamış ancak glutene duyarlılığı bulunan bireylerde, gluten içeren gıdaların tüketimi sonrasında ortaya çıkan sindirim rahatsızlıklarının hafifletilmesinde destekleyici ajanlar olarak değerlendirilmektedir.

EFSA tarafından yapılan maruziyet değerlendirmesine göre günlük ortalama alımın yaklaşık 120 PPU/gün olduğu, bunun yaklaşık 2,7 g enzim preparatına ve yaklaşık 2×10^6 PPI/gün (Protease Picomole International) düzeyinde proteaz aktivitesine denk geldiği belirtilmiştir (EFSA Panel on Food Enzymes, 2025; FSA, 2025).

PPU (Prolyl Peptidase Units), enzimin belirli substrat koşullarında bir dakikada serbest bıraktığı prolin içeren peptitlerin miktarına dayalı aktivite birimidir; PPI (Protease Picomole International) ise katalitik kapasitenin pikomol düzeyinde ölçümünü ifade eder. Bu doz aralıklarında, POP enzim preparatlarının toksikolojik veya genetik güvenlik açısından herhangi bir risk oluşturmadığı bildirilmiştir.

5. GLUTEN İNTOLERANSI VE POP ENZİMİNİN FİZYOLOJİK ROLÜ

Gluten intoleransı, T hücresi aracılı immün yanıt sonucu gelişen bir gluten duyarlılığıdır. Bu durum, klasik çölyak hastalığından farklı olarak otoimmün doku hasarına neden olmadan gastrointestinal belirtilerle seyreder (Fasano ve Catassi, 2012). Glutenin temel immünojenik bileşenleri olan gliadin peptitleri, yüksek prolin ve glutamin içeriği nedeniyle fizyolojik proteazlara karşı dirençlidir (Shan et al., 2002).

Pepsin, tripsin ve kimotripsin gibi sindirim enzimleri, özellikle 33-mer gliadin peptidini yeterli düzeyde parçalayamaz. Bu noktada POP enzimi, prolin içeren peptit bağlarını özgül biçimde kesebilme kapasitesiyle glutenin daha küçük, immünojenik olmayan fragmanlara ayrılmasını sağlar (König vd, 2017).

POP içeren preparatlar çölyak hastalığının tedavisi için bir alternatif değildir; yalnızca glutensiz diyetle yardımcı bir destek unsuru olarak değerlendirilmektedir. Klinik çalışmalarda, *Aspergillus niger* kaynaklı AN-PEP'in karma öğünlerle birlikte verildiğinde mide ve duodenum düzeyinde gluten yükünü anlamlı ölçüde azalttığı ve semptom riskini düşürdüğü gösterilmiştir (König vd., 2017; Di Stasio ve Mamone, 2025).

6. SONUÇ

Sonuç olarak, prolil oligopeptidaz (POP) enzimi, gluten intoleransına sahip bireylerde glutenin parçalanmasını kolaylaştırarak sindirime destek sağlayan önemli bir biyoaktif bileşen olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte, bu enzim glutensiz diyetin yerine geçmez; yalnızca düşük gluten içeriğine sahip diyetlerde yardımcı ve tamamlayıcı bir unsur olarak kullanılmalıdır.

POP enzimi, yüksek substrat özgüllüğü, asidik ortamlarda stabil kalabilme yeteneği ve güvenli kullanım sınırlarının EFSA, FSA ve FDA gibi otoritelerce belirlenmiş olması nedeniyle takviye edici gıda alanında dikkat çeken bir enzimdir. Güncel bilimsel veriler, bu enzimin hedeflenen doz aralıklarında güvenli olduğunu ve gluten toleransını destekleyici potansiyel taşıdığını ortaya koymaktadır.

Gelecekte, prolil oligopeptidazın yalnızca gluten intoleransı değil, aynı zamanda protein sindirim bozuklukları ve metabolik stresle ilişkili gastrointestinal disfonksiyonlar gibi durumlarda da terapötik destek bileşeni olarak değerlendirilebileceği öngörülmektedir.

KAYNAKÇA

- Bethune, M. T., & Khosla, C. (2012). Parallels between pathogens and gluten peptides in celiac sprue. *PLoS Pathogens*, 8(2), e1002482.
- Di Stasio, L., & Mamone, G. (2025). Gluten proteins: Beneficial factors and toxic triggers in human health. *Foods*, 14(19), 3403.
- Dunaevsky, Y. E., Tereshchenkova, V. F., Oppert, B., Belozersky, M. A., Filippova, I. Y., & Elpidina, E. N. (2020). Human proline specific peptidases: A comprehensive analysis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*, 1864(9), 129636.
- EFSA NDA Panel (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies). (2017). Scientific opinion on the safety of proline-specific endopeptidase as a novel food pursuant to Regulation (EC) No 258/97. *EFSA Journal*, 15(2), 4681.
- EFSA Panel on Food Enzymes (FEZ), Zorn, H., Barat Baviera, J. M., Bolognesi, C., Catania, F., Gadermaier, G., Greiner, R., Mayo, B., Mortensen, A., Roos, Y. H., Solano, M. L. M., et al. (2025). Safety evaluation of the food enzyme prolyl oligopeptidase from the genetically modified *Trichoderma reesei* strain DP-Nyq99. *EFSA Journal*, 23(1), e20001.
- European Commission. (2017). Authorising the placing on the market of an enzyme preparation of prolyl oligopeptidase produced with a genetically modified strain of *Aspergillus niger* as a novel food ingredient under Regulation (EC) No 258/97. *Official Journal of the European Union*, L 351/72.
- Fasano, A., Catassi, C. (2012). Celiac disease. *The New England Journal of Medicine*, 367(25), 2419–2426. <https://doi.org/10.1056/NEJMcpl113994>
- Food Standards Agency (FSA). (2025,). Prolyl oligopeptidase (enzyme preparation) [NOVEL-117]. Regulated Food and Feed Products for Great Britain.
- Fülöp, V., Böcskei, Z., & Polgar, L. (1998). Prolyl oligopeptidaz: An unusual beta-propeller domain regulates proteolysis. *Cell*, 94(2), 161–170.
- König, J., Holster, S., Bruins, M. J., & Brummer, R. J. (2017). Randomized clinical trial: Effective gluten degradation by *Aspergillus niger*–derived enzyme in a complex meal setting. *Scientific Reports*, 7(1), 13100.
- Polgar, L. (2002). The prolyl oligopeptidase family. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 59(2), 349–362.
- Shan, L., Molberg, Ø., Parrot, I., Hausch, F., Filiz, F., Gray, G. M., Sollid, L. M., & Khosla, C. (2002). Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science*, 297(5590), 2275–2279.

