

TÜRKİYE VE DÜNYADA TIBBİ BİYOLOJİ

Editör: Prof.Dr. Mehmet Cengiz ÜSTÜNER

yaz
yayınları

Türkiye ve Dünyada Tıbbi Biyoloji

Editör

Prof.Dr. Mehmet Cengiz ÜSTÜNER

yaz
yayınları

2025

Türkiye ve Dünyada Tıbbi Biyoloji

Editör: Prof.Dr. Mehmet Cengiz ÜSTÜNER

© YAZ Yayınları

Bu kitabın her türlü yayın hakkı Yaz Yayınları'na aittir, tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı ya da bir kısmı 5846 sayılı Kanun'un hükümlerine göre, kitabı yayınlayan firmanın önceden izni alınmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayınlanamaz, depolanamaz.

E_ISBN 978-625-8678-80-2

Aralık 2025 – Afyonkarahisar

Dizgi/Mizanpaj: YAZ Yayınları

Kapak Tasarım: YAZ Yayınları

YAZ Yayınları. Yayıncı Sertifika No: 73086

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar/AFYONKARAHİSAR

www.yazyayinlari.com

yazyayinlari@gmail.com

İÇİNDEKİLER

Kanser Progresyonunda ve Tedavisinde Endoplazmik Retikulum Stresinin Rolü
Sena ŞEN, Ceren TİLGEN YASASEVER

Huntington Hastalığının Moleküler Mekanizması.....
*Derya AKYILDIZ ÜSTÜNER, Huejda THARTORİ,
Cihan TANRIKUT, Mehmet Cengiz ÜSTÜNER*

İlaç Sanayide Proteinlerin Yeri ve Önemi
*Derya AKYILDIZ ÜSTÜNER, Huejda THARTORİ,
Cihan TANRIKUT, Mehmet Cengiz ÜSTÜNER*

**Akciğer Kanseriinde MikroRNA'lar Patogenez,
Biyobelirteçler ve Terapötik Potansiyel**
Emre ÖZGÜR, Murat SERİLMEZ

Redox-Sensitive Regulation of Oxidative Stress and Apoptosis in Cancer: The Molecular and Translational Roles of Phytochemicals.....
Gönül Zişan ÖNCEL

Fucoidan Based Combination Strategies in Breast Cancer Therapy
Duygu AYGÜNEŞ-JAFARI

Beyond BRCA: The DNA Damage Response Network And Its Clinical Implications in Breast Cancer.....
Duygu AYGÜNEŞ-JAFARI

Servikal Omurga Dejenerasyonu: Nörolojik Disfonksiyon, İnflamatuvar Süreçler ve Disk Biyolojisinin Moleküler Temelleri
Hande AKALAN

"Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluk da yazarlara aittir."

KANSER PROGRESYONUNDA VE TEDAVİSİNDE ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRESİNİN ROLÜ

Sena ŞEN¹

Ceren TİLGEN YASASEVER²

1. GİRİŞ

Endoplazmik retikulum (ER), ökaryotik hücrelerde hücre çekirdeği ile hücre zarı arasında konumlanan en geniş zarlı organeldir. Bu organel, çekirdek zarının dış katmanı ile fiziksel bir devamlılık içinde olup, ER lümeni olarak adlandırılan bir iç boşluğu çevreleyen geniş bir zar ağından meydana gelir. Endoplazmik retikulumun yapısı ve kapladığı alan, hücrenin işlevine ve çeşidine bağlı olarak değişkenlik gösterir. Organel, tübül ve sisterna gibi farklı biçimlerdeki alt bölgelerden oluşur ve bu dinamik yapılar birbirine dönüşebilir. Bu durum, yüzeyinde ribozom bulunmayan granülsüz endoplazmik retikulum (SER) ile ribozomlarla kaplı olan ve bu nedenle granüllü bir görünüme sahip olan granüllü endoplazmik retikulum (RER) olmak üzere iki temel formun ortaya çıkmasına neden olur (English, Zurek, & Voeltz, 2009).

ER; kalsiyum depolama, kimyasal bileşiklerin detoksifikasyonu ve lipit sentezi olmak üzere pek çok farklı hücresel sürecin gerçekleştiği önemli bir organeldir. Plazma zarı ya da diğer organellere gönderilecek proteinlerin doğru şekilde

¹ Öğr. Gör. Dr., İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji ABD, ORCID: 0000-0003-3967-8903.

² Arş. Gör. Dr., İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji ABD, ORCID: 0000-0002-8732-4117.

katlanması ve post-translasyonel modifikasyonlarının yapılmasından sorumlu olan bölümü granüllü endoplazmik retikulumdur. Buna karşılık, diğer organellere taşınacak lipidlerin sentezi ise düz endoplazmik retikulumda gerçekleşir.

ER aynı zamanda hücre içindeki en önemli kalsiyum iyonu (Ca^{2+}) deposudur ve bu özelliğiyle oksidoredüktaz dengesinin korunmasında kritik bir rol oynar. Sitozole kıyasla ER’de kalsiyum konsantrasyonunun daha yüksek olması, organelde daha oksitleyici bir redoks ortamının oluşmasına neden olur. Bu oksitleyici koşullar, yeni sentezlenen polipeptitlerin disülfid bağlarının oluşumu ve karbonhidrat eklenmesi gibi enzimatik modifikasyonlarının doğru şekilde gerçekleşmesi için gereklidir. ER ortamının aşırı indirgeyici hale gelmesi durumunda, disülfid bağları oluşamaz ve bu da proteinlerin hatalı katlanmasına yol açar (Braakman & Bulleid, 2011; Corazzari, Gagliardi, Fimia, & Piacentini, 2017). Ayrıca, ER’nin protein katlama kapasitesinin sınırına ulaşması halinde, lümen içinde yanlış katlanmış proteinlerin birikimi meydana gelir. Bu durum, Unfolded Protein Response (UPR) olarak bilinen yanıt mekanizmasının aktive olduğu ve Endoplazmik Retikulum Stresi (ERS) olarak da tanımlanan bir hücresel duruma yol açar. Besin yoksunluğu, hipoksik koşullar ve kalsiyum tükenmesi ERS durumunu indükleyebilir (Yu, Li, Sun, & Li, 2025).

Kanser, dünyada olarak başlıca ölüm nedenleri arasında yer almakta; görülme sıklığı artmakta ve pek çok hasta için etkili tedavi seçenekleri halen sınırlı kalmaktadır (Siegel, Giaquinto, & Jemal, 2024). Kanser biyolojisinin karmaşıklığı ve tümörlerin heterojen yapısı kanser insidansının yükselmesinin artan tedavi seçeneklerine rağmen halen en önemli nedenlerinden biridir (Zhu vd. , 2021). Son dönemdeki araştırmalar, ER stresinin kanser gelişimindeki rolüne odaklanmaktadır (Yu vd., 2025). Çalışmalar, ERS’nin hem kanser ilerlemesinin bir nedeni, hem de bir sonucu olduğunu göstermektedir. Onkojenik mutasyonlar ve hücresel

dönüşüm, genellikle artan protein sentezine ve bunun sonucunda ERS'ye yol açar (Blazanin vd. , 2017). Bu stres durumu, tümör hücrelerinin hayatta kalmasını ve elverişsiz tümör mikroçevresine uyum sağlamasını destekleyebilir. Ayrıca ERS, pek çok kanser türünde gözlemlenen bağışıklık sisteminden kaçış ve immün baskılama mekanizmalarına da katkıda bulunmaktadır (Mandulavd. , 2022).

2. ER STRESİNİN SİNYAL YOLAKLARI

Proteinlerin işlevsel üç boyutlu yapılarının oluşturulması ATP, kalsiyum iyonları ve oksitleyici mikroçevre gibi çeşitli faktörler tarafından kontrol edilir. Katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin anormal şekilde agregat oluşturması ER stresini tetikler. Buna karşılık olarak hücre, protein homeostazını yeniden sağlamak UPR sinyal kaskadını aktive eder (Hetz, Zhang, & Kaufman, 2020).

ER stresi, hücresel bir tepki mekanizması olup, ER lümeninde yanlış katlanmış veya katlanmamış proteinlerin birikmesi ve kalsiyum homeostazındaki bozulmalar gibi durumlar karşısında aktive olur (Hetz vd., 2020). UPR'ın işleyişi, üç ana sensör tarafından düzenlenir: Inositol-Requiring Enzyme 1 (IRE1), Protein Kinase RNA-activated (PERK) ve Activating Transcription Factor 6 (ATF6). Bu sensörler, maruz kalınan stresin türüne bağlı olarak, protein katlanması ER'ye bağlı bozunum (ERAD), oksidatif stres, otofaji ve mitokondriyal işlevler gibi süreçleri yöneten farklı sinyal yollarını harekete geçirir (Wiseman, Mesgarzadeh, & Hendershot, 2022). Normal koşullarda bu sensörler, ER şaperonu olan Glucose Regulated Protein 78 (GRP78) bağlanarak inaktif durumda tutar. Ancak ER stresi oluştuğunda, yanlış katlanmış proteinlerin birikimi, GRP78'in bu sensörlerden ayrılmasına neden olur ve bu ayrılma,

UPR sinyal kaskadının başlamasına yol açar (Christianson, Jarosch, & Sommer, 2023).

2.1. IRE1-XBP1 Yolağı

ER stresi başladığında, hem kinaz hem de RNaz enzimatik aktivitelerine sahip IRE1 proteini oligomerleşir ve otofosforilasyon ile aktif hale gelir (Clootsvd. , 2021). Tüm hücrelerde yaygın gözlenen IRE1 α ve başlıca akciğer ve bağırsak epitel hücrelerinde bulunan IRE1 β olmak üzere iki temel izoformu bulunur. Akifleşen IRE1, RNaz aktivitesi sayesinde XBP1'i katalize ederek transkripsiyon faktörü olan XBP1s formuna dönüştürür. XBP1s, protein katlanması ve ERAD ile ilgili genlerin ekspresyonunu artırarak ER homeostazının yeniden sağlanmasında kilit rol oynar (Yamamoto vd. , 2007). IRE1 yolunun bir diğer işlevi ise hücre ölümünü tetikleyebilmesidir. TRAF2 ve ASK1 adaptör proteinlerini kullanarak JNK ve p38 MAPK sinyal yollarını aktive eder. Bu durum, pro-apoptotik BIM proteinini uyarıp, anti-apoptotik Bcl-2'yi baskılayarak apoptozu indükler (Shevelev vd. , 2012).

2.2. PERK-eIF2 α -ATF4-CHOP Yolağı

PERK, ER stresinin ana sensörlerinden biri olup stres anında şaperon GRP78'den ayrılarak aktifleşir ve önemli bir translasyon faktörü olan eIF2 α 'yı fosforiller (Kopp, Larburu, Durairaj, Adams, & Ali, 2019). eIF2 α 'nın fosforilasyonu protein sentezini baskılayarak ER'nin protein sentez yükünü hafifletir. Fosforile eIF2 α , transkripsiyon faktörü ATF4 sentezini artırarak ATF4'ün CHOP ve GADD34 gibi stresle yanıtını düzenleyen genleri aktive etmesine sağlar. Özellikle CHOP, uzun süreli stres durumunda apoptozu tetikleyen önemli bir proteindir (Marton vd. , 2022).

2.3. ATF6 Yolağı

ATF6, ER zarında bulunan bir diğer transmembran sensörü olup stres anında GRP78'den ayrılarak golgiye taşınarak proteolitize uğrayarak transkripsiyon faktörü gibi davranan ATF6f'ye (ATF6 fragmenti) dönüşür. ATF6f, ER stresi yanıt elementlerine (ERSE, CRE) bağlanarak GRP78 ve PDI gibi protein katlanmasına yardımcı şaperon ve enzimlerin üretimini artırarak ER'nin protein kapasitesini güçlendirir (Thuerauf, Marcinko, Belmont, & Glembotski, 2007). ATF6'nın, ana aktivatör ATF6 α ve ana aktivatör inhibitörü olan ATF6 β olmak üzere iki paraloğı bulunur. Ayrıca ATF6, CREB ve SREBP gibi diğer transkripsiyon faktörleri ile etkileşerek şiddetli veya kalıcı stres durumunda ATF6, apoptozla ilişkili genleri de aktive edebilir (Yang, Niemeijer, van de Water, & Beltman, 2020).

3. TÜMÖR KAYNAKLI ER STRESİ VE GRP78 ARACILI ADAPTİF YANITLAR

Artmış glikolitik aktivite gösteren kanser hücreleri, köken aldıkları normal hücelere kıyasla daha hızlı çoğalma eğilimindedir. Bu hüceler, glikoz tükenmesi, asidik ortam ve belirgin hipoksinin hâkim olduğı bir tümör mikroçevresi oluşturur. Hem hücre içi mekanizmalar hem de dış çevresel koşullar, bu hücelerde ER stresinin gelişimine katkı sağlar (Zhaovd. , 2024). Bu stres durumu, ER içerisinde glikozilasyonu bozulmuş veya yanlış katlanmış proteinlerin birikmesine neden olur.

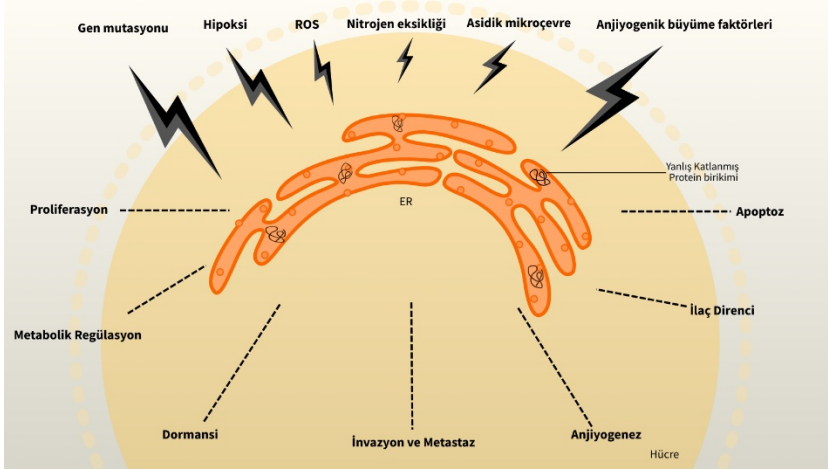
UPR'nin önemli adaptif yanıt bileşenlerinden biri de tümör mikroçevresinde ER şaperonu olan GRP78'in aktivasyonudur. GRP78, fizyolojik stres koşullarında ortaya çıkan homeostaz bozukluklarına karşı hücreyi korumak üzere indüklenir ve patolojik süreçlerde dokuları hasardan koruyucu işlevler üstlenir. Bu protein; tümör hücrelerinin çoğalmasını,

yaşamını sürdürmesini, metastatik potansiyelini ve çeşitli tedavilere karşı direnç geliştirmesini destekleyen temel bir düzenleyici olarak öne çıkar. Bu nedenle GRP78 düzeylerinin, tümör biyolojisi ve tedaviye yanıt açısından anlamlı bir biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir (Lee, 2025). Artan kanıtlar, tümör hücrelerinde hipoksi ve besin eksikliği nedeniyle UPR'nin aktivasyonunun, kanser progresyonunu ve prognozunu etkileyebileceğini düşündürmektedir (Bartoszewska, Collawn, & Bartoszewski, 2022).

Tümörün karmaşık mikroçevresinin metastaza neden olarak kemoterapi, radyoterapi ve immünoterapinin başarısız olmasının ana nedenlerinden biri olduğu bilinmektedir. Tümör mikroçevresi esas olarak kanser hücreleri, stromal hücreler ve tümör hücrelerinin metabolizmasından ve hayatta kalmasından sorumlu olan sinyal kaskadlarını etkileyen hücre dışı matris bileşenlerinden oluşur (Fatima, 2025). ER, protein modifikasyonu, katlanması ve bozulmasında oldukça önemlidir. Bununla birlikte, tümör mikroçevresi ER homeostazını bozar ve protein katlanmasını etkiler ve ER stresini indükler (X. Chen & Cubillos-Ruiz, 2021). Solid tümörlerin biyolojik özellikleri, büyük ölçüde tümör hücreleri ve tümör mikroçevresi arasındaki etkileşim ile ilgilidir. Tümör hücreleri, yüksek besin gereksinimleri ve yetersiz kan akışı nedeniyle uzun süreli stres durumundadır. Tümör hücreleri, farklı tümör immünosüpresif mikroçevresi nedeniyle immün gözetimden kaçır (Guo, Song, Liu, Ou, & Guo, 2024). Bu nedenle, kanser hücreleri stres yanıtlarını düzenleyerek anormal koşullar altında hayatta kalabilir. Kemoterapilerin uzun süreli kullanımının, tümör mikroçevresinin yeniden programlanmasına yol açarak, pankreas kanserinde ilaç direncine ve kemoterapi etkinliğinin azalmasına yol açtığı gösterilmiştir (Mukherjee, Rakshit, Shanmugam, & Sarkar, 2023).

4. ERS'NİN TÜMÖR HÜCRESİNDEKİ ROLLERİ

ERS ve buna karşı gelişen UPR, tümör hücrelerinin kaderini belirleyen çift yönlü bir süreçtir. ER stresinin şiddeti ve süresine bağlı olarak UPR, ya apoptozu tetikleyerek tümör baskılayıcı etki gösterir ya da tümör hücrelerinin zorlu koşullara uyum sağlamasına yardımcı olarak tümör ilerlemesini destekler (Oakes, 2020). UPR; metabolizma, proliferasyon, dormansi, invazyon, metastaz, anjiyogenez ve tedaviye direnç gibi biyolojik süreçlerde rol oynar (şekil 1).



şekil 1. Tümör mikro vresinde endoplazmik retikulum (ER) stresinin başlıca tetikleyicileri ve kanser hücrelerinde yol açtığı biyolojik sonuçlar.

Metabolik düzenleme: Kanser hücrelerinde artmış glikoliz, lipogenez ve glutamin metabolizması ER stresi tarafından şekillendirilir. PERK, IRE1 ve ATF6 yolları; HIF-1 , c-MYC, LDH, SCD1 gibi metabolik düzenleyicileri artırarak Warburg etkisini güçlendirir ve tümör büyümesini hızlandırır (Wu, Yu, Li, Sun, & Tu, 2021). ATF4 aracılığıyla amino asit metabolizması yeniden programlanır ve hücreler glutamin bağımlılığı kazanır (Yan & Liu, 2025).

Proliferasyon: UPR, IRE1-JNK, KEAP1-NRF2, IL-6/STAT3 ve MAPK gibi yolları aktive ederek çeşitli kanser türlerinde hücre çoğalmasını artırır. ATF6 ve XBP1, birçok malignitede proliferasyonu destekleyen temel UPR bileşenleridir (C. Chen & Zhang, 2017).

Dormansi: UPR, özellikle dissemine tümör hücrelerinin uzak organlarda düşük metabolik aktiviteyle hayatta kalmasını sağlar. PERK aracılı translayon baskılanması ve IRE1-p38 aktivasyonu hücreleri G0-G1 fazında tutarak dormansiyi destekler (Ranganathan, Zhang, Adam, & Aguirre-Ghiso, 2006).

İnvazyon ve metastaz: ER stresi, EMT'yi tetikleyerek tümör hücrelerinin hareketliliğini artırır. ATF6, Snail/Snail2 gibi EMT transkripsiyon faktörlerini düzenler. Ayrıca PERK yolu, anoikis direncini ve uzak dokularda pre-metastatik niş oluşumunu destekler (Cullinan vd. , 2003).

Anjiyogenez: IRE1-XBP1 ve PERK-ATF4 yolları VEGF, IL-6 ve HIF-1 α gibi anjiyogenik faktörlerin üretimini artırarak yeni damar oluşumunu uyarır. Bununla birlikte bazı durumlarda ER stresinin anjiyogenezi baskılayabileceği de gösterilmiştir (Masoud & Li, 2015).

İlaç direnci: ER stresi, ABC taşıyıcılarının artışı, DNA onarımı, antioksidan yanıt ve exozom aracılı iletişim gibi mekanizmalar üzerinden kemoterapi, hedefe yönelik tedavi ve immünoterapi direncini güçlendirir. Ancak bazı koşullarda ER stresinin yapay olarak artırılması, dirençli hücrelerin yeniden kemoterapiye duyarlı hale gelmesini sağlayabilir (Kannampuzha & Gopalakrishnan, 2023).

Apoptoz: Şiddetli ve uzun süreli ER stresi, IRE1-TRAF2-ASK1-JNK ve CHOP aracılı ölüm yollarını aktive ederek apoptozu başlatır (Oyadomari & Mori, 2004). Misfolded proteinler aracılı DR5 aktivasyonu ve IRE1'in RIDD

fonksiyonuyla yapılan düzenlemeler, hücre kaderinin belirlenmesinde önemli rol oynar (Luvd. , 2014).

5. ER STRESİNİN TME YENİDEN MODELLEMESİNDEKİ ROLÜ

Tümör mikroçevresinde (TME) ortaya çıkan ERS, hem tümör hücrelerini hem de bağışıklık hücrelerini etkileyerek tümörün ilerlemesini ve bağışıklık sisteminden kaçışını düzenleyen merkezi bir mekanizmadır (Yuvd., 2025).

5.1. Tümör Hücrelerinde ER Stresi

Tümör hücrelerindeki ER stresi, bağışıklık sisteminden kaçışı kolaylaştıran çeşitli mekanizmaları tetikler (Pommiervd. , 2018). MHC-I moleküllerinin ve TAP1 gibi bileşenlerin azalması yoluyla T hücrelerinin tümörü tanınması antijen sunumunun baskılanması sonucu engellenir. XBP1s gibi faktörler T hücrelerinin anti-tümör aktivitesini zayıflatır (Livd. , 2019). Ayrıca, NK hücrelerini uyaran MICA gibi ligandların azalmasına yol açar. ER stresi altındaki tümör hücreleri, bağışıklık baskılayıcı özelliklere sahip makrofajlar, dendritik hücreler (DC'ler) ve Myeloid Kökenli Baskılayıcı Hücreleri (MDSC'ler) çeker ve onları aktive eder (Mahadevanvd. , 2012). PD-L1 ifadesinin artması ve immün baskılayıcı moleküllerin IL-6 ve PGE2 gibi salınması yoluyla olur (X. Chen & Cubillos-Ruiz, 2021).

5.2. Bağışıklık Hücrelerinde ER Stresi

Besin yetersizliği ve oksidatif stres gibi TME'deki olumsuz koşullar bağışıklık hücrelerinde ER stresine yol açarak işlevlerini bozar.

5.2.1. T Hücreleri: IRE1 α /XBP1 yolağının aktivasyonu, mitokondriyal fonksiyonu ve IFN- γ üretimini bozarak T hücrelerini zayıflatır (Mavd. , 2019). Aynı yolak, T hücresi

tükenmesini teşvik eden bağışıklık kontrol noktalarını aktive eder. PERK-CHOP yolağı, T hücrelerinin enerji metabolizmasını bozarak etkinliklerini azaltır. ER stres, baskılayıcı Treg hücrelerinin işlevlerini daha da güçlendirir (X. Chen & Cubillos-Ruiz, 2021).

5.2.2. Makrofajlar: IRE1 α -XBP1 yolağı, makrofajların tümörü destekleyici (M2 tipi) fenotipe dönüşümünü ve tümör istilasını kolaylaştıran enzim olan katepsinin salgılamasını sağlar. Lipid birikimi bu süreci daha da kötüleştirir (Batistavd. , 2020).

5.2.3. Myeloid Kökenli Baskılayıcı Hücreler (MDSC): PERK yolağının aktivasyonu, MDSC'lerin hayatta kalmasını, birikimini ve T hücrelerini baskılama yeteneğini sürdürmesini sağlar. PERK inhibisyonu, bağışıklık tepkisini güçlendirerek immünoterapinin etkinliğini artırabilir (Tcyganovvd. , 2021).

5.2.4. Dendritik Hücreler (DC'ler): TME'deki oksidatif stres, DC'lerde IRE1 α -XBP1 yolağını aktive ederek aşırı lipid birikimine yol açar. Bu lipid yüklü DC'ler, antijen sunma ve T hücrelerini aktive etme yeteneklerini kaybeder. Ayrıca immün baskılayıcı PGE2 üretimini artırır (Cubillos-Ruizvd. , 2015).

5.2.5. Natural Killer (NK) Hücreleri: IRE1 α -XBP1 yolağı, NK hücrelerinin çoğalması ve mitokondriyal solunumu için hayati öneme sahiptir. Bu yolak bozulduğunda, NK hücrelerinin tümörü yok etme yeteneği ciddi şekilde zayıflar ve metastaz artar (Dongvd. , 2019).

ER stresi, tümör hücrelerinin bağışıklık gözetiminden kaçmasını sağlarken, aynı zamanda bağışıklık hücrelerinin işlevlerini baskılayarak immünosüpresif bir mikroçevre oluşturur. ER stres yolaklarının hedeflenmesi, kanser immünoterapilerinin etkinliğini artırmak için umut verici bir strateji olarak öne çıkmaktadır.

6. ERS VE KANSER TEDAVİSİ

Kanser hücrelerinin immün sistemden kaçış mekanizmaları geliştirmesi üzerine immün sistemin yeniden etkinleştirilmesi tümör hücrelerine karşı yanıt bağışıklık yanıtını güçlendirir. Bu kapsamda kontrol noktası inhibitörleri, adaptif hücre tedavileri, onkolitik virüsler ve kanser aşıları gibi yaklaşımlar kullanılmaktadır (Kciukvd. , 2023). Ancak bazı kanser türlerinde belirgin başarılar elde edilmiş olsa da birçok hastada tedaviye yanıt sınırlı kalmakta; direnç, nüks ve tedaviye bağlı toksisiteler görülebilmektedir (Zhangvd. , 2025). Tümör mikroçevresinde hem kanser hem bağışıklık hücrelerinde ortaya çıkan belirgin ER stresi ve UPR aktivasyonu, antitümör yanıtı zayıflatarak bağışıklık kaçışını destekler (Salvagno, Mandula, Rodriguez, & Cubillos-Ruiz, 2022). Bu nedenle ER stresine yönelik hedeflerin modüle edilmesi, mevcut immünoterapilerin etkinliğini artırabilecek ve tedavi seçeneklerini genişletebilecek potansiyel bir strateji olarak değerlendirilmektedir.

Kanser hücrelerinde aşırı eksprese olan GRP78, proliferasyon, metastaz ve tedavi direnciyle ilişkilidir (Amaresan & Gopal, 2023). Bu nedenle GRP78'i hedefleyen çeşitli peptitler, doğal proteinler ve küçük moleküller geliştirilmiştir. BMTP78 ve BC71 gibi seçici peptitler, özellikle yüzey GRP78'i (csGRP78) hedefleyerek tümör hücrelerinde mitokondriyal yolla apoptozu aktive ederek metastazı azaltır. ISM ve PAR-4 gibi pro-apoptotik proteinler de GRP78'e bağlanarak tümör ve endotel hücrelerinde hücre ölümünü artırır. SubAB toksini ise GRP78'i parçalayarak antitümör etki oluşturur (Kaovd. , 2018). Ayrıca YUM70 ve FL-5 gibi küçük moleküller GRP78'in fonksiyonunu bozarak tümör hücrelerine özgü apoptozu destekler. GRP78'i hedefleyen CAR-T hücrelerinin de deneysel modellerde etkili olduğu bildirilmiştir, ancak hücre yüzeyinde geçici GRP78 ifadesi kendi kendine hedeflemeye yol açabildiğinden üretim süreçlerinin optimize edilmesi gerekmektedir (Samantavd. , 2021).

Tedavide kullanılmak üzere ER stresinin sinyal yolaklarından biri olan IRE1 α kaskadı için de hem kinaz hem RNaz inhibitörleri geliştirilmiştir. KIRA serisi gibi tip II kinaz inhibitörleri IRE1 α 'nın hem kinaz hem RNaz fonksiyonlarını baskılayarak doku hasarını ve bazı tümörlerin büyümesini azaltır (Carlesso, Chintha, Gorman, Samali, & Eriksson, 2019). Öte yandan 4 μ 8C, STF-083010 ve MKC8866 gibi RNaz inhibitörleri XBP1 mRNA'sının degrade olmasını engelleyerek tümör ilişkili sitokinlerin üretimini azaltır ve kemoterapi ile kombinasyonlarda tedavi etkinliğini artırır (Agalakova, 2025).

Kanser tedavisinde PERK yolu hedef alınan bir başka ER stres koludur. GSK2656157 ve GSK2606414 gibi seçici PERK inhibitörleri çeşitli kanser modellerinde tümör büyümesini baskılar ve ATF4-CHOP yanıtını azaltır. Ancak bu ajanların toksisitesi önemli bir sınırlamadır, dolayısıyla daha seçici PERK inhibitörlerinin geliştirilmesi gerekmektedir (Talukdar, Orr, & Lei, 2023).

ATF6'nın tümör oluşumu, anjiyogenez ve hücre dormansisi ile ilişkisi nedeniyle bu yolun inhibe edilmesi de potansiyel bir tedavi stratejisidir (Chovd. , 2020). Ceapin türevleri ATF6'ya özgü inhibitörler olup diğer UPR yollarını etkilemeden ATF6 aktivasyonunu engeller (Gallagher & Walter, 2016). Melatonin ise doğal bir molekül olarak ATF6'yı inhibe ederek tümör hücrelerinde apoptozu destekleyebilir ve normal dokuları radyasyon hasarından koruyabilir (Talib, Alsayed, Abuawad, Daoud, & Mahmod, 2021). Bu nedenle ATF6 inhibitörleri, özellikle kombinasyon tedavilerinde, gelecekteki immünoterapiler için umut vaat etmektedir.

7. KLİNİK ÖNEMİ

UPR yoluna ait proteinlerin tümör biyolojisindeki belirgin rolleri, bu molekülleri potansiyel tümör belirteçleri hâline

getirmektedir. GRP78'in bazı kanser türlerinde serum örneklerinde görülmesi UPR ilişkili proteinlerin tanı ve izlem amacıyla kullanılabileceğini göstermektedir (Huangvd. , 2021). Ayrıca UPR aktivitesi, hastaların genel sağkalımıyla yakın ilişki göstermiştir. UPR proteinleri yalnızca bağımsız biyobelirteçler olmakla kalmayıp AFP, PSA, CEA, CA15-3 ve CA125 gibi mevcut tümör belirteçlerinin işlenmesini de etkileyebilmekte; bu da birlikte ölçümün tümör takibinde daha etkili olabileceğini düşündürmektedir (Zhouvd. , 2024).

UPR'ı hedefleyen çok sayıda molekül tanımlanmış olsa da çoğu klinik aşamaya geçmemiştir. Şu anda sınırlı sayıda klinik çalışma yürütülmekte olup bunların başında GRP78 hedefli tedaviler gelmektedir. Anti-GRP78 antikoru PAT-SM6, miyelom ve melanom için Faz I çalışmalarda güvenli bulunmuştur (Raschevd. , 2015). Ayrıca çocukluk çağı refrakter hematolojik ve onkolojik hastalıklarında GRP78 hedefli CAR-T hücrelerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalar devam etmektedir (Yuanvd. , 2024).

CRISPR teknolojisi ve nanoteknoloji, UPR modülasyonuna yönelik yeni ve hassas tedavi stratejileri sunmaktadır. Nanopartikül aracılı CRISPR/Cas9 ile UPR düzenleyicisi CNPY2'nin hedeflenmesi hepatoselüler karsinom modellerinde güçlü antitümör etkiler göstermiştir (Hongvd. , 2022). PERK'e karşı siRNA taşıyan manyetik nanopartiküller ise makrofajlarda PERK'i baskılayarak M1 fenotipine yönelimi artırmıştır (D'Ursovd. , 2023).

8. SONUÇ

ERS ve UPR yollarının, tümör biyolojisinin hemen her aşamasında belirleyici bir role sahip olduğu görülmektedir. Çift yönlü etkiler, ER stresinin hem tümör gelişimini destekleyen hem de tedavi direncini güçlendiren kritik bir mekanizma olduğunu

ortaya koymaktadır. Güncel çalışmalar, GRP78, PERK, IRE1 α ve ATF6 gibi UPR bileşenlerinin terapötik açıdan hedeflenebilir olduğunu göstermekte; özellikle immünoterapi ile kombine edilen UPR modölatörlerinin umut verici sonuçlar sunduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte, spesifik inhibitörlerin toksisite profilleri ve klinik geçiş aşamalarındaki sınırlılıklar, gelecekte daha seçici, güvenli ve etkili ER-stres hedefli tedavilerin geliştirilmesi gerektiğine işaret etmektedir. Genel olarak ER stresinin anlaşılması, kanser tedavisinde yeni nesil hassas ve kişiselleştirilmiş stratejilerin kapısını aralamaktadır.

KAYNAKÇA

- Agalakova, N. I. (2025). Modulation of Endoplasmic Reticulum Stress in Experimental Anti-Cancer Therapy. *Int J Mol Sci*, 26(13). doi:10.3390/ijms26136407
- Amaresan, R., & Gopal, U. (2023). Cell surface GRP78: a potential mechanism of therapeutic resistant tumors. *Cancer Cell Int*, 23(1), 100. doi:10.1186/s12935-023-02931-9
- Bartoszewska, S., Collawn, J. F., & Bartoszewski, R. (2022). The Role of the Hypoxia-Related Unfolded Protein Response (UPR) in the Tumor Microenvironment. *Cancers (Basel)*, 14(19). doi:10.3390/cancers14194870
- Batista, A., Rodvold, J. J., Xian, S., Searles, S. C., Lew, A., Iwawaki, T., . . . Zanetti, M. (2020). IRE1alpha regulates macrophage polarization, PD-L1 expression, and tumor survival. *PLoS Biol*, 18(6), e3000687. doi:10.1371/journal.pbio.3000687
- Blazanin, N., Son, J., Craig-Lucas, A. B., John, C. L., Breech, K. J., Podolsky, M. A., & Glick, A. B. (2017). ER stress and distinct outputs of the IRE1alpha RNase control proliferation and senescence in response to oncogenic Ras. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 114(37), 9900-9905. doi:10.1073/pnas.1701757114
- Braakman, I., & Bulleid, N. J. (2011). Protein folding and modification in the mammalian endoplasmic reticulum. *Annu Rev Biochem*, 80, 71-99. doi:10.1146/annurev-biochem-062209-093836
- Carlesso, A., Chintla, C., Gorman, A. M., Samali, A., & Eriksson, L. A. (2019). Effect of Kinase Inhibiting RNase Attenuator (KIRA) Compounds on the Formation of Face-to-Face Dimers of Inositol-Requiring Enzyme 1: Insights

from Computational Modeling. *Int J Mol Sci*, 20(22). doi:10.3390/ijms20225538

Chen, C., & Zhang, X. (2017). IRE1alpha-XBP1 pathway promotes melanoma progression by regulating IL-6/STAT3 signaling. *J Transl Med*, 15(1), 42. doi:10.1186/s12967-017-1147-2

Chen, X., & Cubillos-Ruiz, J. R. (2021). Endoplasmic reticulum stress signals in the tumour and its microenvironment. *Nat Rev Cancer*, 21(2), 71-88. doi:10.1038/s41568-020-00312-2

Cho, J., Min, H. Y., Pei, H., Wei, X., Sim, J. Y., Park, S. H., . . . Lee, H. Y. (2020). The ATF6-EGF Pathway Mediates the Awakening of Slow-Cycling Chemoresistant Cells and Tumor Recurrence by Stimulating Tumor Angiogenesis. *Cancers (Basel)*, 12(7). doi:10.3390/cancers12071772

Christianson, J. C., Jarosch, E., & Sommer, T. (2023). Mechanisms of substrate processing during ER-associated protein degradation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 24(11), 777-796. doi:10.1038/s41580-023-00633-8

Cloots, E., Simpson, M. S., De Nolf, C., Lencer, W. I., Janssens, S., & Grey, M. J. (2021). Evolution and function of the epithelial cell-specific ER stress sensor IRE1beta. *Mucosal Immunol*, 14(6), 1235-1246. doi:10.1038/s41385-021-00412-8

Corazzari, M., Gagliardi, M., Fimia, G. M., & Piacentini, M. (2017). Endoplasmic Reticulum Stress, Unfolded Protein Response, and Cancer Cell Fate. *Front Oncol*, 7, 78. doi:10.3389/fonc.2017.00078

Cubillos-Ruiz, J. R., Silberman, P. C., Rutkowski, M. R., Chopra, S., Perales-Puchalt, A., Song, M., . . . Glimcher, L. H. (2015). ER Stress Sensor XBP1 Controls Anti-tumor

Immunity by Disrupting Dendritic Cell Homeostasis. *Cell*, 161(7), 1527-1538. doi:10.1016/j.cell.2015.05.025

Cullinan, S. B., Zhang, D., Hannink, M., Arvisais, E., Kaufman, R. J., & Diehl, J. A. (2003). Nrf2 is a direct PERK substrate and effector of PERK-dependent cell survival. *Mol Cell Biol*, 23(20), 7198-7209. doi:10.1128/MCB.23.20.7198-7209.2003

D'Urso, A., Oltolina, F., Borsotti, C., Prat, M., Colangelo, D., & Follenzi, A. (2023). Macrophage Reprogramming via the Modulation of Unfolded Protein Response with siRNA-Loaded Magnetic Nanoparticles in a TAM-like Experimental Model. *Pharmaceutics*, 15(6). doi:10.3390/pharmaceutics15061711

Dong, H., Adams, N. M., Xu, Y., Cao, J., Allan, D. S. J., Carlyle, J. R., . . . Glimcher, L. H. (2019). The IRE1 endoplasmic reticulum stress sensor activates natural killer cell immunity in part by regulating c-Myc. *Nat Immunol*, 20(7), 865-878. doi:10.1038/s41590-019-0388-z

English, A. R., Zurek, N., & Voeltz, G. K. (2009). Peripheral ER structure and function. *Curr Opin Cell Biol*, 21(4), 596-602. doi:10.1016/j.ceb.2009.04.004

Fatima, S. (2025). Tumor Microenvironment: A Complex Landscape of Cancer Development and Drug Resistance. *Cureus*, 17(4), e82090. doi:10.7759/cureus.82090

Gallagher, C. M., & Walter, P. (2016). Ceapins inhibit ATF6alpha signaling by selectively preventing transport of ATF6alpha to the Golgi apparatus during ER stress. *Elife*, 5. doi:10.7554/eLife.11880

Guo, X., Song, J., Liu, M., Ou, X., & Guo, Y. (2024). The interplay between the tumor microenvironment and tumor-derived small extracellular vesicles in cancer

development and therapeutic response. *Cancer Biol Ther*, 25(1), 2356831. doi:10.1080/15384047.2024.2356831

Hetz, C., Zhang, K., & Kaufman, R. J. (2020). Mechanisms, regulation and functions of the unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 21(8), 421-438. doi:10.1038/s41580-020-0250-z

Hong, F., Lin, C. Y., Yan, J., Dong, Y., Ouyang, Y., Kim, D., . . . Li, Z. (2022). Canopy Homolog 2 contributes to liver oncogenesis by promoting unfolded protein response-dependent destabilization of tumor protein P53. *Hepatology*, 76(6), 1587-1601. doi:10.1002/hep.32318

Huang, J., Pan, H., Wang, J., Wang, T., Huo, X., Ma, Y., . . . Jiang, H. (2021). Unfolded protein response in colorectal cancer. *Cell Biosci*, 11(1), 26. doi:10.1186/s13578-021-00538-z

Kannampuzha, S., & Gopalakrishnan, A. V. (2023). Cancer chemoresistance and its mechanisms: Associated molecular factors and its regulatory role. *Med Oncol*, 40(9), 264. doi:10.1007/s12032-023-02138-y

Kao, C., Chandna, R., Ghode, A., Dsouza, C., Chen, M., Larsson, A., . . . Ge, R. (2018). Proapoptotic Cyclic Peptide BC71 Targets Cell-Surface GRP78 and Functions as an Anticancer Therapeutic in Mice. *EBioMedicine*, 33, 22-32. doi:10.1016/j.ebiom.2018.06.004

Kciuk, M., Yahya, E. B., Mohamed Ibrahim Mohamed, M., Rashid, S., Iqbal, M. O., Kontek, R., . . . Allaq, A. A. (2023). Recent Advances in Molecular Mechanisms of Cancer Immunotherapy. *Cancers (Basel)*, 15(10). doi:10.3390/cancers15102721

Kopp, M. C., Larburu, N., Durairaj, V., Adams, C. J., & Ali, M. M. U. (2019). UPR proteins IRE1 and PERK switch BiP

from chaperone to ER stress sensor. *Nat Struct Mol Biol*, 26(11), 1053-1062. doi:10.1038/s41594-019-0324-9

- Lee, A. S. (2025). Stress-induced translocation of the endoplasmic reticulum chaperone GRP78/BiP and its impact on human disease and therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 122(30), e2412246122. doi:10.1073/pnas.2412246122
- Li, Y., Tinoco, R., Elmen, L., Segota, I., Xian, Y., Fujita, Y., . . . Ronai, Z. A. (2019). Gut microbiota dependent anti-tumor immunity restricts melanoma growth in Rnf5(-/-) mice. *Nat Commun*, 10(1), 1492. doi:10.1038/s41467-019-09525-y
- Lu, M., Lawrence, D. A., Marsters, S., Acosta-Alvear, D., Kimmig, P., Mendez, A. S., . . . Ashkenazi, A. (2014). Opposing unfolded-protein-response signals converge on death receptor 5 to control apoptosis. *Science*, 345(6192), 98-101. doi:10.1126/science.1254312
- Ma, X., Bi, E., Lu, Y., Su, P., Huang, C., Liu, L., . . . Yi, Q. (2019). Cholesterol Induces CD8(+) T Cell Exhaustion in the Tumor Microenvironment. *Cell Metab*, 30(1), 143-156 e145. doi:10.1016/j.cmet.2019.04.002
- Mahadevan, N. R., Anufreichik, V., Rodvold, J. J., Chiu, K. T., Sepulveda, H., & Zanetti, M. (2012). Cell-extrinsic effects of tumor ER stress imprint myeloid dendritic cells and impair CD8(+) T cell priming. *PLoS One*, 7(12), e51845. doi:10.1371/journal.pone.0051845
- Mandula, J. K., Chang, S., Mohamed, E., Jimenez, R., Sierra-Mondragon, R. A., Chang, D. C., . . . Rodriguez, P. C. (2022). Ablation of the endoplasmic reticulum stress kinase PERK induces paraptosis and type I interferon to

- promote anti-tumor T cell responses. *Cancer Cell*, 40(10), 1145-1160 e1149. doi:10.1016/j.ccell.2022.08.016
- Marton, M., Banhegyi, G., Gyongyosi, N., Kalman, E. E., Pettko-Szandtner, A., Kaldi, K., & Kapuy, O. (2022). A systems biological analysis of the ATF4-GADD34-CHOP regulatory triangle upon endoplasmic reticulum stress. *FEBS Open Bio*, 12(11), 2065-2082. doi:10.1002/2211-5463.13484
- Masoud, G. N., & Li, W. (2015). HIF-1alpha pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy. *Acta Pharm Sin B*, 5(5), 378-389. doi:10.1016/j.apsb.2015.05.007
- Mukherjee, O., Rakshit, S., Shanmugam, G., & Sarkar, K. (2023). Role of chemotherapeutic drugs in immunomodulation of cancer. *Curr Res Immunol*, 4, 100068. doi:10.1016/j.crimmu.2023.100068
- Oakes, S. A. (2020). Endoplasmic Reticulum Stress Signaling in Cancer Cells. *Am J Pathol*, 190(5), 934-946. doi:10.1016/j.ajpath.2020.01.010
- Oyadomari, S., & Mori, M. (2004). Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress. *Cell Death Differ*, 11(4), 381-389. doi:10.1038/sj.cdd.4401373
- Pommier, A., Anaparthi, N., Memos, N., Kelley, Z. L., Gouronnec, A., Yan, R., . . . Fearon, D. T. (2018). Unresolved endoplasmic reticulum stress engenders immune-resistant, latent pancreatic cancer metastases. *Science*, 360(6394). doi:10.1126/science.aao4908
- Ranganathan, A. C., Zhang, L., Adam, A. P., & Aguirre-Ghiso, J. A. (2006). Functional coupling of p38-induced up-regulation of BiP and activation of RNA-dependent protein kinase-like endoplasmic reticulum kinase to drug

resistance of dormant carcinoma cells. *Cancer Res*, 66(3), 1702-1711. doi:10.1158/0008-5472.CAN-05-3092

Rasche, L., Duell, J., Castro, I. C., Dubljevic, V., Chatterjee, M., Knop, S., . . . Brandlein, S. (2015). GRP78-directed immunotherapy in relapsed or refractory multiple myeloma - results from a phase 1 trial with the monoclonal immunoglobulin M antibody PAT-SM6. *Haematologica*, 100(3), 377-384. doi:10.3324/haematol.2014.117945

Salvagno, C., Mandula, J. K., Rodriguez, P. C., & Cubillos-Ruiz, J. R. (2022). Decoding endoplasmic reticulum stress signals in cancer cells and antitumor immunity. *Trends Cancer*, 8(11), 930-943. doi:10.1016/j.trecan.2022.06.006

Samanta, S., Yang, S., Debnath, B., Xue, D., Kuang, Y., Ramkumar, K., . . . Neamati, N. (2021). The Hydroxyquinoline Analogue YUM70 Inhibits GRP78 to Induce ER Stress-Mediated Apoptosis in Pancreatic Cancer. *Cancer Res*, 81(7), 1883-1895. doi:10.1158/0008-5472.CAN-20-1540

Sheveleva, E. V., Landowski, T. H., Samulitis, B. K., Bartholomeusz, G., Powis, G., & Dorr, R. T. (2012). Imexon induces an oxidative endoplasmic reticulum stress response in pancreatic cancer cells. *Mol Cancer Res*, 10(3), 392-400. doi:10.1158/1541-7786.MCR-11-0359

Siegel, R. L., Giaquinto, A. N., & Jemal, A. (2024). Cancer statistics, 2024. *CA Cancer J Clin*, 74(1), 12-49. doi:10.3322/caac.21820

Talib, W. H., Alsayed, A. R., Abuawad, A., Daoud, S., & Mahmod, A. I. (2021). Melatonin in Cancer Treatment:

Current Knowledge and Future Opportunities. *Molecules*, 26(9). doi:10.3390/molecules26092506

Talukdar, G., Orr, H. T., & Lei, Z. (2023). The PERK pathway: beneficial or detrimental for neurodegenerative diseases and tumor growth and cancer. *Hum Mol Genet*, 32(16), 2545-2557. doi:10.1093/hmg/ddad103

Tcyganov, E. N., Hanabuchi, S., Hashimoto, A., Campbell, D., Kar, G., Slidel, T. W., . . . Gaborilovich, D. I. (2021). Distinct mechanisms govern populations of myeloid-derived suppressor cells in chronic viral infection and cancer. *J Clin Invest*, 131(16). doi:10.1172/JCI145971

Thuerauf, D. J., Marcinko, M., Belmont, P. J., & Glembotski, C. C. (2007). Effects of the isoform-specific characteristics of ATF6 alpha and ATF6 beta on endoplasmic reticulum stress response gene expression and cell viability. *J Biol Chem*, 282(31), 22865-22878. doi:10.1074/jbc.M701213200

Wiseman, R. L., Mesgarzadeh, J. S., & Hendershot, L. M. (2022). Reshaping endoplasmic reticulum quality control through the unfolded protein response. *Mol Cell*, 82(8), 1477-1491. doi:10.1016/j.molcel.2022.03.025

Wu, Q., Yu, X., Li, J., Sun, S., & Tu, Y. (2021). Metabolic regulation in the immune response to cancer. *Cancer Commun (Lond)*, 41(8), 661-694. doi:10.1002/cac2.12182

Yamamoto, K., Sato, T., Matsui, T., Sato, M., Okada, T., Yoshida, H., . . . Mori, K. (2007). Transcriptional induction of mammalian ER quality control proteins is mediated by single or combined action of ATF6alpha and XBP1. *Dev Cell*, 13(3), 365-376. doi:10.1016/j.devcel.2007.07.018

- Yan, X., & Liu, C. (2025). The ATF4-glutamine axis: a central node in cancer metabolism, stress adaptation, and therapeutic targeting. *Cell Death Discov*, 11(1), 390. doi:10.1038/s41420-025-02683-7
- Yang, H., Niemeijer, M., van de Water, B., & Beltman, J. B. (2020). ATF6 Is a Critical Determinant of CHOP Dynamics during the Unfolded Protein Response. *iScience*, 23(2), 100860. doi:10.1016/j.isci.2020.100860
- Yu, X., Li, W., Sun, S., & Li, J. (2025). Endoplasmic Reticulum Stress in Cancer Progression: A Comprehensive Review of Its Role and Mechanisms. *Int J Med Sci*, 22(16), 4561-4585. doi:10.7150/ijms.120874
- Yuan, Y., Fan, J., Liang, D., Wang, S., Luo, X., Zhu, Y., . . . Zhao, X. (2024). Cell surface GRP78-directed CAR-T cells are effective at treating human pancreatic cancer in preclinical models. *Transl Oncol*, 39, 101803. doi:10.1016/j.tranon.2023.101803
- Zhang, M., Liu, C., Tu, J., Tang, M., Ashrafizadeh, M., Nabavi, N., . . . Liu, S. (2025). Advances in cancer immunotherapy: historical perspectives, current developments, and future directions. *Mol Cancer*, 24(1), 136. doi:10.1186/s12943-025-02305-x
- Zhao, J., Jin, D., Huang, M., Ji, J., Xu, X., Wang, F., . . . Xiao, M. (2024). Glycolysis in the tumor microenvironment: a driver of cancer progression and a promising therapeutic target. *Front Cell Dev Biol*, 12, 1416472. doi:10.3389/fcell.2024.1416472
- Zhou, Y., Tao, L., Qiu, J., Xu, J., Yang, X., Zhang, Y., . . . Zhao, Y. (2024). Tumor biomarkers for diagnosis, prognosis and targeted therapy. *Signal Transduct Target Ther*, 9(1), 132. doi:10.1038/s41392-024-01823-2

Zhu, L., Jiang, M., Wang, H., Sun, H., Zhu, J., Zhao, W., . . . He, Y. (2021). A narrative review of tumor heterogeneity and challenges to tumor drug therapy. *Ann Transl Med*, 9(16), 1351. doi:10.21037/atm-21-1948

HUNTINGTON HASTALIĞININ MOLEKÜLER MEKANİZMASI

Derya AKYILDIZ ÜSTÜNER¹

Huejda THARTORİ²

Cihan TANRIKUT³

Mehmet Cengiz ÜSTÜNER⁴

1. GİRİŞ

Huntington Hastalığı (HH), ilk kez Dr.George Huntington tarafından tanımlanmıştır. Bu tanım, 1872 yılında gerçekleşmiş olup (Huntington, 1872), otozomal dominant geçişli, geç başlangıçlı, progresif ve ölümcül bir nörodejeneratif hastalık olduğu gün geçtikçe gerçekleştirilen araştırmalarla kanıtlanmıştır (MacDonald vd., 1993). Başlangıçta “Huntington Koresi” olarak adlandırılmıştır. Bu hastalık santral sinir sistemini etkilemektedir. Batı Avrupa kökenli topluluklarda görülme sıklığı 100.000 kişide 3-7’dir (Vonsattel & DiFiglia, 1997). Genellikle 30-40 yaşlarında başlayan semptomlar, 10-20 yıl içinde ölümle sonuçlanmaktadır (Vonsattel & DiFiglia, 1997). Vakaların %10’u erken başlangıçlı

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Pr., Eskişehir/Türkiye, dustuner5@gmail.com, ORCID: 0000-0002-8511-946X.

² MSc., Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Hücresel Tedavi ve Kök Hücre Üretim, Uygulama ve Araştırma Merkezi (ESTEM), Eskişehir/Türkiye, huejda_t@yahoo.com, ORCID: 0009-0005-1790-8407.

³ Arş. Gör. Dr., Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir/Türkiye, chntnrkt@gmail.com, ORCID: 0000-0002-5692-1533.

⁴ Prof. Dr., Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir/Türkiye, mcustuner@gmail.com, ORCID: 0000-0001-9802-3988.

yani jüvenil formdadır. Erken başlangıçlı Huntington hastalığı daha hızlı ve daha ağır seyretmektedir (Menalled, 2005).

Huntington Hastalığı (HH) klinik tablosu üç temel alanda kendini göstermektedir. Bunlar motor (hareketle ilgili), psikiyatrik (davranış ve duygudurumla ilgili) ve kognitif (bilişsel işlevler ile ilgili) bozukluklar olmaktadır. Bu üç alan, farklı evrelerde farklı şiddetlerde belirtiler göstermektedir (Zuccato, Valenza, & Cattaneo, 2010). Otozomal dominant kalıtılan bir hastalık ve huntingtin isimli proteinin nöronlar tarafından fazla üretilip birikmesi ile oluşan bir nörodejeneratif hastalıktır. 4p16.3 kromozom bölgeleri ile karakterizedir. Genetik aktarımla sonraki nesillerde CAG dizi tekrarı artması şeklindedir. CAG dizi tekrarı çoksa hastalık şiddetli ve erken yaşta görülür (Nørremølle vd., 2009).

1.1. Motor Bozuklukları

En belirgin ve en çok dikkat çeken bulgusu “kore” adı verilen ani, istemsiz ve düzensiz kas hareketleridir. Bu hareketler hastalığın başlarında kolların ve bacakların proksimal ve distal ekstremitelerinde kısa ve düzensiz sarsıntılar olarak görülmektedirler (Vonsattel & DiFiglia, 1997). Hastalık ilerledikçe bu hareketler bütün vücuda yayılmaktadır, aynı zamanda daha şiddetli ve sürekli kasılmalar halinde devam eder (Davies vd., 1997).

Geç başlangıçlı olgularda kore ile birlikte, kontrollü hareketlerde de koordinasyon bozukluğu yaşanmaktadır. Bu durumda hastaların yazma, yürüme, nesneleri tutma gibi basit ve temel motor becerilerinde zorlanma durumları olmaktadır (Mangiarini vd., 1996). Ayrıca düzensiz göz hareketleri, dizartri olarak bilinen konuşma bozulması, bradikinezi, yani hareketlerin yavaşlaması, kasların istemsiz kasılması ve bükülmesi gibi durumlar da görülebilmektedir (Gu vd., 2005).

Jüvenil form ise daha farklı bir motor tablosuyla seyretmektedir. Bu olgularda kore daha az görölmektedir, bazen de hiç olmayabilir. Onun yerine bradikinezi, distoni, rijidite yani kaslarda sertlik gibi bozukluklar görölmektedir. Bazı hastalarda titreme ve epileptik nöbetler de görölmektedir (Menalled, 2005).

1.2. Psikiyatrik belirtiler

Davranışsal ve duygusal değışiklikler, motor bulgular başlamadan önce bile hastalığın ilk belirtileri olabilir. Bu değışiklikler hastalığın başladığını açıkça göstermese de çevrenin fark edeceği değışikliklerdir (Zuccato vd., 2010). En yaygın psikiyatrik belirtiler anksiyete, depresyon ve bipolar bozukluk benzeri duygu durum dalgalanmaları (manif-depresif durumlar) olmaktadır (Harjes & Wanker, 2003).

1.3. Kognitif Bozukluklar

Hastalığın ilerleyen evrelerinde bilişsel işlevlerde bozulma başlamaktadır. İlk başta bu bozukluklar dikkat dağınıklığı ve düşünce yavaşlığı belirtileri ile kendini göstermektedir. Zamanla ise daha da şiddetlenerek demansa yol açmaktadır (Vonsattel & DiFiglia, 1997). Bu durum hafızasını kullanma, karar verme becerisini, yargılama, planlama ve organize olma yetisini ciddi bir şekilde etkilemektedir (Zuccato vd., 2010).

2. HUNTINGTİN PROTEİNİNİN YAPISI

Huntingtin, yaklaşık 348 kDa moleküler ağırlığa sahip büyük bir proteindir ve bu yüksek moleküler ağırlık, kristal üretimini ve kütle spektrometrisi ile detaylı yapısal analizleri zorlaştırmaktadır (Harjes & Wanker, 2003; Zuccato vd., 2010).

Huntingtin proteininin en dikkat çekici yapısal özelliği, NH₂-terminal bölgesinde yer alan polyglutamin (polyQ) dizisi olmaktadır (MacDonald vd., 1993). Bunun yanı sıra, proteinde

HEAT tekrarları olarak adlandırılan ve protein-protein etkileşimlerinde rol alan özel amino asit motifleri de bulunmaktadır (Andrade & Bork, 1995).

Normal huntingtin proteini (HTT), sinir sistemi gelişimi ve hücrelerin hayatta kalma mekanizmalarında önemli roller üstlenmektedir. Transkripsiyon regülasyonu, aksoplazmik taşınma, sinaptik vezikül dinamiği ve anti-apoptotik etkilere sahip olmaktadır ve tam da bu fonksiyonları sayesinde hücre içi homeostaz korunmaktadır (Harjes & Wanker, 2003; Zuccato vd., 2010). HTT'nin ayrıca kromatinle etkileşimi ve transkripsiyon faktörleri (örneğin REST/NRSF) ile olan ilişkisi, gen ekspresyonunun ince ayarlanmasında rol oynamaktadır. mHTT bu düzeni bozarak REST'in nükleusa taşınmasına yol açmaktadır, bu da birçok nöronal genin baskılanmasına neden olmaktadır (Zuccato vd., 2010).

2.1. PolyQ Bölgesi

İnsan huntingtin proteininde polyQ dizisi, 18. amino asitten itibaren başlamaktadır. Sağlıklı bireylerde genellikle 35 glutamin kalıntısını geçmemekle birlikte, yapılan evrimsel analizler, polyQ dizisinin deuterostom canlı grubuna özgü eski bir özellik olduğunu ve ilk kez deniz kestanelerinde NHQQ dizisi şeklinde ortaya çıktığını göstermektedir (Tartari vd., 2008). Bu da, polyQ dizisinin memelilerde kademeli olarak uzayarak insanlarda en uzun ve polimorfik bir yapı hali aldığını düşündürmektedir (Tartari vd., 2008). İlginç bir şekilde, fare ve sıçanda polyQ daha kısadır (sırasıyla 7 ve 8 Q), bu da evrimsel trendin tersine döndüğünü göstermektedir.

PolyQ dizisini takiben, yalnızca yüksek omurgalılarda bulunan bir polyprolin (polyP) bölgesi yer almakta ve bu bölgenin, polyQ dizisini çözünür halde tutarak stabilitesine katkı sağladığı düşünülmektedir (Tartari vd., 2008).

1994 yılında, Nobel ödüllü Max Perutz ve ekibi, polyQ dizisinin polar fermuar (polar zipper) yapısı oluşturduğunu ve bu yapının transkripsiyon faktörleriyle etkileşimde görev aldığını göstermiştir (Perutz, Johnson, Suzuki, & Finch, 1994). Günümüzde, polyQ bölgesinin huntingtin'in bağlandığı protein ortaklarıyla olan ilişkilerinde anahtar düzenleyici rol oynadığı bilinmektedir (Harjes & Wanker, 2003).

Bezprozvanny ve ekibi, X-ışını kristalografisi kullanarak polyQ dizisinin esnek konformasyonlara (alfa heliks, rastgele sarmal, uzatılmış döngü) sahip olabileceğini ortaya koymuştur ve COOH-terminal bölgedeki polyprolin dizisinin, bu yapıların stabilitesine katkı sağlayabileceğini öne sürmüşlerdir (M. W. Kim, Chelliah, Kim, Otwinowski, & Bezprozvanny, 2009).

2.2. HEAT Tekrarları: Yapıya Açılan Bir Yol

PolyQ dizisinin hemen ardından, HEAT tekrarları olarak adlandırılan 40 amino asitlik diziler yer almaktadır. Bu tekrarlar, protein-protein etkileşimlerinde görev alır ve huntingtin proteininde 16 adet olarak tanımlanmıştır, ayrıca 4 ayrı küme halinde organize olmuştur ve özellikle deuterostom canlılarda oldukça korunmuşlardır (Andrade & Bork, 1995).

2001 yılında, Andrade ve arkadaşları, HEAT tekrarlarının üç boyutlu bir yapı olan α -ROD yani helikal yapı formunu aldığını bildirmiştir (Andrade & Bork, 1995). Sonrasında, daha yakın zamanda, yapay sinir ağı algoritmaları kullanılarak huntingtin proteininde H1 (aa 114–413), H2 (aa 672–969) ve H3 (aa 2667–2938) bölgelerinde üç farklı α -ROD domaini tanımlanmıştır (M. W. Kim vd., 2009). Bu alanların, huntingtin molekülü içerisinde intra- ve intermoleküler etkileşimlere katıldığı ve homodimerleşmeyi sağlayabileceği düşünülmektedir (Harjes & Wanker, 2003). Bütün bu veriler, huntingtin'in çoklu protein ortakları aracılığıyla çok işlevli bir yapıya sahip olabileceğini desteklemektedir (Zuccato vd., 2010).

2.3. BDNF Yitimi

BDNF (beyin kaynaklı nörotrofik faktör), merkezi sinir sisteminde yüksek yoğunlukta bulunmaktadır. İnsan ve diğer memelilerin kanında da saptanabilmektedir ancak, dolaşımdaki BDNF'nin işlevi ile ilgili araştırmalar devam etmektedir. (Zuccato vd., 2010). Kanda bulunan BDNF; mononükleer kan hücreleri ve endotel hücrelerinde sentezlenen BDNF'den, trombositlerden salınan BDNF'den ve oldukça küçük bir oranda da olsa kan-beyin bariyerini geçen BDNF'den kaynaklanmaktadır.

BDNF ekspresyonunun ve metabolizmasının nasıl düzenlendiği gelişim sürecindeki sıçanlarda serum BDNF düzeylerindeki değişimlerin beyinle paralel olduğu gösterilmektedir. Bu bulgular ve HD beyinde BDNF'nin belirgin şekilde azaldığını ortaya koyan geniş veri seti temelinde, periferik BDNF'nin hem hastalığın ilerleyişini izlemek hem de belirli bir tedavinin etkinliğini değerlendirmek için biyobelirteç olarak kullanılabileceği öne sürülmektedir (Zuccato vd., 2010).

Rodent modellerinde özellikle BDNF mRNA düzeyi, sistematik olarak izlenebilmekte ve bu düzey R6/2 farelerinde ve HD sıçanlarında hastalığın ilerleyişiyle korelasyon göstermektedir. Ayrıca, kan BDNF mRNA düzeyleri farmakolojik tedavilere duyarlıdır tıpkı bazı farelerdeki gibi. R6/2 farelerine akut ve kronik olarak uygulanan CEP-1347 (nöroprotektif ve nörotrofik etkileri olan bir MLK inhibitörü), tedavi edilmeyen R6/2 farelerine kıyasla, hem kan hem de beyinde toplam BDNF mRNA seviyelerinde artışa yol açmaktadır (Gu vd., 2005).

İnsanlarda ise BDNF protein düzeylerini belirlemeye yönelik bazı girişimler yapılmış olsa da, insan kan örneklerinde (RNA için tam kan; protein için plazma veya serum) BDNF proteininin saptanması oldukça karmaşıktır ve değişkenlik

göstermektedir. HD hastalarında BDNF tayinini güvenilir hale getirmek için, numune toplama ve işleme protokollerinin standardizasyonuna ve büyük sayıda örnekle çalışmaya ihtiyaç vardır (Zuccato vd., 2010).

2.4. Proteoliz

Huntington hastalığı (HH) araştırmalarında çığır açan en önemli keşiflerden biri, huntingtin proteininin kaspazlar tarafından proteolitik olarak kesildiği ve mutant huntingtin'in bu şekilde parçalanmasının engellenmesinin, HD fare modellerinde terapötik fayda sağladığı gösterilmiştir. Bu bulgular, mutant huntingtin parçalanmasının patolojik süreçte rol oynadığını ortaya koymuştur (Graham vd., 2006).

Huntingtin'in toksik fragmanlarının hücresel toksisiteyi artırdığı yönündeki bulgularla birlikte, huntingtin'in kaspazlar tarafından substrat olarak kullanılması, "toksik fragman hipotezi" olarak adlandırılan yeni bir modelin gelişmesine yol açmıştır ve bu hipoteze göre, proteolitik parçalanma yoluyla açığa çıkan, uzamış poliglutamin (polyQ) içeren toksik fragmanlar, hücre içinde birikerek diğer kaspazların aktivasyonunu tetikler ve bu süreç bir kısır döngü oluşturarak hücre ölümüne yol açmaktadır (Graham vd., 2006).

Hayden grubunun daha yakın tarihli bir çalışmasında, HH'deki temel proteolitik olayın kaspaz-6 aracılığıyla gerçekleştiği gösterilmiştir (Graham vd., 2006), özellikle de kaspaz-6 tarafından yapılan huntingtin kesiminin engellenmesinin HD fare modellerinde hastalık fenotipini önemli ölçüde iyileştirdiği tespit edilmiştir (Graham vd., 2006).

Huntingtin proteolizinin patolojik bir mekanizma olarak işlediğine dair başka önemli kanıtlar da Massachusetts General Hospital'dan Marian DiFiglia ve ekibinden bulunmuştur. Bu grup, hem normal hem de mutant huntingtin'in sistein proteaz

ailesinden olan kalpainler tarafından da kesildiğini göstermeyi başarmıştır (Y. J. Kim vd., 2001).

Bu bulgular, proteolitik parçalanmanın hem toksik protein parçalarının oluşumu hem de hastalığın ilerleyişinde temel rol oynayan hücresel stres mekanizmalarının tetiklenmesi açısından merkezi bir öneme sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Davies vd., 1997; Wellington vd., 2002)

2.5. Agregasyon

Huntingtin agregatlarının toksisitesi, hücre kültürlerinde inklüzyon cisimciklerinin oluşumunun hücre ölümüyle korelasyon göstermesi temeline dayanmaktadır (Browne vd., 1997). Özellikle, huntingtin agregatlarının hücre çekirdeğine yönlendirildiğinde toksisitelerinin arttığı düşünülmektedir (W. Yang, Dunlap, Andrews, & Wetzel, 2002). Bu toksisite, diğer poliglutamin (polyQ) içeren proteinlerin agregatlara çekilmesi ve böylece bu proteinlerin fizyolojik işlevlerini kaybetmeleri yoluyla ortaya çıkabilir (Zuccato vd., 2010). Hücrelerde çok sayıda polyQ içeren protein bulunur; özellikle CREB bağlayıcı protein (CBP) gibi transkripsiyon faktörleri ve transkripsiyonel düzenleyiciler bu grupta yer almaktadır.

Çekirdek içi birikimlerin, transkripsiyon düzenleyicilerin huntingtin agregatları tarafından sekestre edilmesiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir ve agregatlar, hücre gövdesi ile sinaptik uç arasında gerçekleşen aksonal taşımayı da bozar; bunun nedeni, çözünür motor proteinleri kendilerine bağlayabilmeleridir (DiFiglia vd., 1995).

Hastalığın ilerlemesiyle birlikte agregasyonun artması, bu yapıların patolojik etkisini destekler nitelikte olup (Zuccato vd., 2010) özellikle, 94 CAG tekrarını içeren exon 1'i ifade eden koşullu fare modeli (HD94) üzerinde yapılan bir çalışmada, mutant huntingtin inklüzyonlarının hastalık ilerleyişiyle paralel şekilde arttığı gösterilmiştir (Yamamoto, Lucas, & Hen, 2000).

Aynı çalışmada, mHTT ekspresyonu durdurulduğunda agregatların ortadan kalktığı, bunun da davranışsal ve bilişsel bozukluklarda iyileşmelere yol açtığı saptanmıştır. Bu çalışma, biyokimyasal olarak çözünmesi zor olan agregatların, nöronlar tarafından hücre çekirdeği ve dışındaki birikimlerden temizlenebileceğini ilk kez göstermiştir. Bu sebeple, agregat oluşumunu azaltmaya ya da mutant huntingtin'i inaktive etmeye yönelik terapötik yaklaşımlar potansiyel olarak faydalı olabilmektedir.

Artan sayıda çalışma, ubikuitin-proteazom sistemi (UPS) bozulmasının hücrelerin mutant huntingtin'i parçalayamamasına ve bunun sonucunda agregatların oluşmasına sebep olduğunu ortaya koymaktadır (Bence, Sampat, & Kopito, 2001). Huntingtin agregatları, ubikuitin antikorları ile işaretlenebilir ve bu agregatlar proteazom alt birimleri ve çeşitli şaperon proteinlerini içermektedir (Zuccato vd., 2010). Bu durum, mutant huntingtin'in yok edilmek üzere işaretlendiğini ancak UPS'in işlev bozukluğu nedeniyle etkili bir şekilde ortadan kaldırılamadığını göstermektedir (Wang vd., 2008).

Bu bozulmanın, glia hücrelerine kıyasla nöronlarda daha belirgin olduğu görülmektedir ve bu nöronal UPS aktivitesinin düşük olmasının, yanlış katlanmış proteinlerin nöronlarda daha fazla birikmesine ve bu hücrelerin hastalığa karşı daha duyarlı hale gelmesine neden olabileceğini düşündürmektedir.

Huntingtin proteininin yapısal özellikleri (HEAT tekrarları) ve poliglutamin dizisinin konfigürasyonu agregasyon eğilimiyle ilişkili olmaktadır (Andrade & Bork, 1995; M. W. Kim vd., 2009; Perutz vd., 1994). Bu bağlamda, çözünür huntingtin'in lokalizasyonu ve hücre içi etkileşimleri de proteostazın düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (DiFiglia vd., 1995; Harjes & Wanker, 2003).

2.6. Mitokondri Bozuklukları

Huntington hastalığının (HH) patogeneğinde mitokondriyal düzensizliğin önemli bir rol oynadığına dair çok sayıda bulgu bulunmaktadır (Browne vd., 1997). Buna ilişkin örneklerden biri, mutant huntingtin (mHTT) proteininin mitokondrinin dış membranıyla ilişkili olduğu ve bu etkileşimin elektron taşıma zincirinin (ETC) kompleks II ve III'ünde işlev kaybına yol açtığı gösterilmiştir (Feigin vd., 2001). Bu durum, hücre içi ATP havuzunun azalması ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışı ile korelasyon göstermektedir (Kuwert vd., 1990). Trikarboksilik asit (TCA) döngüsünde görev alan mitokondriyal enzim akonitaz, süperoksit aracılı inaktivasyona özellikle duyarlı olup bu da ETC'nin bozulmasıyla ROS üretiminin artması sonucu TCA döngüsünün inhibe edilerek ATP üretiminin daha da kısıtlanabileceğini düşündürmektedir (Jenkins, Koroshetz, Beal, & Rosen, 1993).

Mitokondriyal işlev bozukluğunun bir diğer örneği ise mitokondriyal taşınımın bozulmasıdır. mHTT, aksonlar boyunca mitokondrilerin ileri (anterograd) ve geri (retrograd) yönlerde taşınmasını engelleyerek mitokondri bakımını aksatmakta ve enerji gereksiniminin yüksek olduğu sinapslar gibi bölgelerde mitokondri birikimini azaltmaktadır (Li, Li, Yu, Shelbourne, & Li, 2001). Ayrıca, mHTT'nin mitokondri biyogenezini düzenleyen genlerin ekspresyonundan sorumlu PPAR- γ koaktivator-1 α (PGC-1 α) aracılı yolları baskıladığı da bulunmuştur (Gu vd., 2005). HH'de erken evrede mitokondriyal parçalanma (fizyon) bildirilmiştir ve bu süreç anormal fizyonu ve taşınımı etkilemektedir. Böylece nöronal fonksiyon bozulmaktadır (S.-H. Yang vd., 2008).

HH'de erken evrede mitokondriyal parçalanma (fizyon) bildirilmiş olup, bu olayın GTPaz aktivitesine sahip dynamin ilişkili protein-1 (DRP-1) üzerinden gerçekleştiği öne

sürülmektedir. Bu görüşü destekleyen çalışmalar, DRP-1'in GTPaz aktivitesinin azaltılmasının, anormal mitokondriyal fizyonu ve taşınımı düzelttiğini ve HD fare modellerinde fenotipik iyileşmelere yol açtığını göstermiştir.

Bu gözlemler, HH'de bozulan mitokondriyal fonksiyonların klinik tablo üzerindeki belirgin etkisine işaret etmekte ve mHTT'nin enerji metabolizmasını bozarak ve oksidatif hasarı artırarak nöronal disfonksiyona neden olduğu mekanizmayı ortaya koymaktadır.

Mitokondri bakımında, lokalizasyonunda ve aktivitesindeki bozulmalar aynı zamanda ALS, Alzheimer hastalığı (AD) ve Parkinson hastalığı (PD) gibi diğer nörodejeneratif hastalıklarda da bildirilmiştir. Bu durum özellikle dikkat çekicidir çünkü hücrel enerji yetersizliği yalnızca nöronal sinyal iletimini değil, aynı zamanda işlevsel bir proteomun sürdürülmesini de tehlikeye atabilir. ATP düzeylerinin ilerleyici olarak azalması, proteostaz ve transkripsiyonel ağların temel işlevlerini sekteye uğratabilecek sonuçlar doğurabilmektedir.

2.7. Nöronal İletimde Bozulma

Mutant HTT, sinaptik iletimde görev alan vezikül taşınım proteinleriyle de etkileşerek sinaptik iletiyi bozmaktadır. Bu, hem GABAerjik hem glutamaterjik sistemlerde disfonksiyona yol açmakta ve özellikle NMDA reseptörlerine aşırı duyarlılık gelişir ve kalsiyum akışı artarak eksitotoksisiteye neden olmaktadır (W. Yang vd., 2002).

2.8. Hücrel Temizleme Sistemlerinin Yetersizliği

Hem otofaji hem de UPS, mHTT ve onun agregatlarını temizlemekte yetersiz kalabilmektedir. Mutant protein, otofajik vezikül oluşumunu bozabilmekte, lizozomal işlevi engellemekte ve otofaji akışını durdurabilmektedir. Bu durum, toksik

proteinlerin birikmesini hızlandırır ve hücre ölümünü kolaylaştırmaktadır (Bence vd., 2001; Wang vd., 2008).

3. HUNTINGTON HASTALIĞININ NÖROPATOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Huntington hastalığında en belirgin nöropatolojik değişiklik, beyin striatum bölgesine özgü nöron kaybıdır (Vonsattel & DiFiglia, 1997). GABA-erjik orta boy diknesi projeksiyon nöronları özellikle, yani striyatal nöronların yaklaşık %80ini oluşturan hücreler, hastalık sürecinde en fazla etkilenen hücre grubu olmaktadır.

Hastalığın erken evrelerinde nöronların dopamin D1 ve D2 reseptörlerinin %30-40 ı kaybolmaktadır (MacDonald vd., 1993). Bunun ardından ilk motor belirtileri görülmektedir. Son evrelerde ise kaudat putamen bölgesindeki nöronların %90ından fazlası yok olmaktadır. Bu aşamada striatumda atrofi ve gliyoz başlar.

İleri dönemlerde nörodejenerasyon, sadece striatumla sınırlı değildir, serebral korteks, globus pallidus, talamus, subtalamik çekirdek, nucleus accumbens, substansiya nigra, serebellum, beyaz madde gibi beyin bölgelerinde de yayılmaktadır.

Kontrolsüz hareketler, bu dejenerasyonun bazal gangliyon-talamus-korteks yollarında yarattığı bozulmalardan kaynaklanmaktadır. Duygudurum ve kişilik değişimleri ise prefrontal korteksteeki nöronların disfonksiyonu ile ilişkili olmaktadır.

4. HUNTINGTON HASTALIĞININ BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) ve Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) ile yapılan çalışmalar, Huntington hastalığında enerji metabolizmasında belli değişiklikler olduğunu ortaya koymaktadır (Feigin vd., 2001).

Özellikle bazal gangliyonlar ve serebral kortekste glikoz metabolizmasının yavaşladığı görülmüştür (Jenkins vd., 1993). Kaudat nükleustaji hipometabolizma bradikinezi, rijidite, demans ve fonksiyonel kapasite kaybıyla doğrudan ilişkili olmaktadır, putaminal hipometabolizma, kore ve göz hareketlerindeki bozukluklarla bağlantılı, talamus ise hastadaki distoni derecesiyle ilgilidir (Feigin vd., 2001).

Daha da dikkat çekici bir husus ise hastalığı taşıyan bireylerin klinik belirtileri ortaya çıkmadan yıllar önce metabolik değişimlerin gözlenmesidir (Jenkins vd., 1993). Kısacası hastalığın, semptomlardan çok önceden biyokimyasal düzeyde başlamasıdır.

NMR görüntülemeleri, özellikle bazal gangliya ve oksipital kortekste artan laktat üretimi ile glikoliz bozukluğunu doğrulamakta olup serebrospinal sıvıda pürivat artışı, kas dokusunda fosfokreatin/kreatin ve ATP/fosfokreatin oranlarında azalma yaygın olarak görülmektedir (Jenkins vd., 1993).

Postmortem doku analizleri hastalıktan etkilenen beyin bölgelerinde oksidatif forisforilasyon, TCA (trikarboksilik asit) döngüsü enzimleri (pürivat dehidrogenaz, kompleks II-IV, akonitaz) aktivitelerinin azaldığını göstermiştir.

Önemli bir metabolik enzim olan GAPDH (gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz) da hastalıkta dikkat çekmiştir ve aktivitesinde belirgin bir değişiklik gözlenmese de, hücre içi yerleşimi, mutant huntington proteinin varlığında değişmektedir.

Bu da araştırmacıları bu enzimin hastalığın patogenezinde dolaylı bir rolü olabileceğini düşündürmektedir.

5. HUNTINGTON HASTALIğINDA GENETİK HAYVAN MODELLERİ

Huntington hastalığının (HH) moleküler mekanizmalarını anlamaya yönelik araştırmalarda genetik hayvan modelleri büyük önem teşkil etmektedir (Davies vd., 1997; Hodgson vd., 1999; Mangiarini vd., 1996; Menalled, 2005). Bu modeller sayesinde normal ya da mutant huntingtin proteininin, farklı doku ve hücresele seviyelerde, farklı süreçlerde nasıl davrandığı ayrıntılı biçimde izlenebilmektedir (Davies vd., 1997; Hodgson vd., 1999; Mangiarini vd., 1996; Menalled, 2005).

5.1. Transgenik fare modelleri

Transgenik fareler, huntingtin geninin insan versiyonunu içeren DNA parçalarının fare genomuna aktarılmasıyla elde edilmektedir. Bu alandaki öncü çalışmalardan biri, Gillian Bates ve ekibi tarafından gerçekleştirilmiş olup insan huntingtin geninin ilk ekzonunu ve 144 CAG tekrarını taşıyan 1.9 kb'lık bir DNA parçası, fare genomuna entegre edilmiştir. Bu fareler, R6/2 olarak adlandırılmış ve çok erken yaşlarda davranışsal ve anatomik bozukluklar göstermişlerdir, ayrıca 3.5 haftada öğrenme ve hafıza testlerinde bozulmalar, 5 haftada motor testlerde ciddi eksiklikler gözlenmiştir. Beyin ve striyatal hacimde hızlı azalma, 12 haftada nöron kaybı ve 15 haftaya kadar ölüm gerçekleşmiştir.

R6/2 hattı, hızlı ilerleyen fenotipi nedeniyle ilaç taramaları için ideal bir modeldir ama hastalığın erken mekanizmalarının çalışılması için daha uygun olan yavaş ilerleyici R6/1 hattı da geliştirilmiştir ve her iki modelde de mutant huntingtin'in nükleer inklüzyonları, hastalık ilerledikçe sayı ve boyut olarak artmaktadır (Mangiarini vd., 1996).

5.2. Knock-in Fare Modelleri

Klasik transgenik modellerde, dış kaynaklı genler genomda rastgele yerlere entegre edilir ve bu durum, çevresindeki genlerin ifadesini bozabilir ve gerçekçi olmayan fenotiplere neden olabilmektedir (Menalled, 2005). Bu durumun önüne geçmek için, knock-in teknolojisi kullanılarak mutant huntingtin geninin doğal genetik bağlamda ve fizyolojik düzeyde ifade edildiği fare modelleri geliştirilmiştir.

Bu farelerde, ya fare HD geni (Hdh) içine CAG tekrarları entegre edilmektedir ya da fare exon 1'i insan exon 1 ile değiştirilmektedir. Örneğin, HdhQ92, HdhQ111 gibi modeller başlangıçta nöropatoloji göstermemiş olsa da, daha yakından incelendiğinde davranış bozuklukları ve ilerleyen yaşta striyatal dejenerasyon saptanmıştır, Hdh(CAG)150 modeli ise 9. ayda agregat oluşumu ve 2. yılda motor bozukluklarla birlikte striyatal nöron kaybı göstermektedir (Menalled, 2005).

5.3. Sıçan Modelleri

Sıçanlar, daha büyük yapıları sayesinde davranışsal ve nörogörüntüleme testleri açısından farelere göre avantaj sunmaktadırlar (S.-H. Yang vd., 2008). İlk HD sıçan modeli, huntingtin geninin 171–1520 amino asitlik çeşitli formlarının lentiviral vektörlerle striyatuma aktarılmasıyla geliştirilmiştir ancak bu ifade geçici ve lokaldir.

Bu sınırlamayı aşmak için Tübingen Üniversitesi'nden Olaf Riess, 51 CAG tekrarı içeren 1962-bp'lik bir mutant huntingtin cDNA'sını endogen promotor kontrolünde sürekli olarak ifade eden ilk transgenik HD sıçan modelini üretmiş olup sıçanlarda davranışsal bozukluklar ve histopatolojik değişiklikler, erişkin başlangıçlı HD'yi taklit etmektedir. Ayrıca embriyonik kök hücrelerin izole edilmesiyle, gelecekte knock-in sıçan modellerinin geliştirilmesini mümkün kılmaktadır.

6. TEDAVİ AMAÇLI MUTANT HUNTINGTİN EKSPRESYONUNU HEDEFLEME

HD'ye yönelik olarak koşullu bir fare modeliyle yapılan çığır açıcı gözlemler, mutant huntingtin (mHTT) ekspresyonu durdurulduğunda mHTT agregasyonu ve toksisitesinin tersine çevrilebileceğini göstermiştir (Yamamoto vd., 2000). Bu bulgular, hücrelerin içsel protein kalite kontrol mekanizmalarının poliglutamin ekspresyonunun toksik etkilerini tersine çevirebileceğini ve mHTT inklüzyonları ile oligomerlerinin temizlenebileceğini ortaya koymaktadır (Kordasiewicz vd., 2012).

Daha yakın tarihli çalışmalar ise, antisens oligonükleotidlerin (ASO'lar) veya tek sarmallı küçük girişimci RNA'ların (ss-siRNA'lar) HD farelerinin merkezi sinir sistemine verilmesiyle (Zuccato vd., 2010), vahşi tip huntingtin düzeylerine çok az ya da hiç etki etmeksizin mHTT protein düzeylerinin azaltılabileceğini göstermiştir (Yu vd., 2012).

Ayrıca, ASO tedavisi uygulanan HD farelerinde agregat yükünde belirgin bir azalma sağlanmış ve buna eşlik eden motor koordinasyon ile yaşam süresinde iyileşmeler gözlemlenmiş olup (Kordasiewicz vd., 2012) bu RNAi tabanlı susturma yaklaşımlarının, spinocerebellar ataksi (SCA), amyotrofik lateral skleroz (ALS) ve Parkinson hastalığı (PD) gibi diğer nörodejeneratif hastalıkların fare modellerinde de etkili olduğu gösterilmiştir (S.-H. Yang vd., 2008).

Bu bulgular cesaret verici olsa da, aynı zamanda bu tedavi protokollerinin gelişiminin erken aşamalarında olduğunu göstermektedir ve etkilenen bireylerin yaşam tarzı üzerinde ciddi olumsuz etkileri olabilmektedir (S.-H. Yang vd., 2008). Özellikle, bu etkilerin geçici doğası nedeniyle, hastaların yaşamları boyunca tekrarlayan enjeksiyonlara maruz kalması gerekecektir ve bu nedenle, nihai hedef; mHTT ekspresyonunu seçici olarak azaltan,

daha az invaziv ve zaman açısından daha verimli ilaçların geliştirilmesi olmalıdır (Kordasiewicz vd., 2012).

Proteinlerin katlanması ve temizlenmesine dair genel mekanizmaların yanı sıra, yeni bulgular poliglutamin proteinlerinin ortak bir ekspresyon biçimini de paylaştığını öne sürmektedir (Harjes & Wanker, 2003). Maya hücrelerinde yapılan ve poliglutamin toksisitesinin düzenleyicilerini araştıran genetik bir tarama, uzun poliglutamin dizilerinin seçici olarak ifade edilmesi için korunan bir transkripsiyon uzama faktörü olan Spt4'ün gerekli olduğunu ortaya koymuştur ve (Andrade & Bork, 1995) dikkat çekici bir şekilde, Spt4 kaybı; mHTT ifadesinde, agregasyonunda ve toksisitesinde çarpıcı bir azalmaya yol açmakta, ancak transkriptomda bariz büyük değişiklikler yaratmamaktadır (Perutz vd., 1994).

7. SONUÇ

Huntington hastalığının moleküler mekanizmasını derinlemesine incelenirken, hastalığın yalnızca genetik bir bozukluk olmaktan öte, hücresel düzeyde çok katmanlı bir patolojik süreç içerdiği görülmüştür. Mutant huntingtin proteininin yapısal özelliklerinden başlayarak polyQ bölgesinin toksisite mekanizmalarını, proteolitik parçalanma süreçlerini, agregasyon oluşumunu ve bunun hücresel fonksiyonlara etkilerini bilmek, hastalığın neden bu kadar hızlı ilerleyebildiğini ve neden çok farklı nöronal sistemleri aynı anda etkileyebildiğini daha net anlaşılması konusunda önemli bir yer edinmektedir. Mitokondriyal bozulma, enerji metabolizmasındaki aksaklıklar, nöronal iletimde yaşanan sorunlar ve hücresel temizleme sistemlerinin yetersizliği gibi mekanizmaların da hep birlikte HH'nin karmaşık klinik tablosunu oluşturduğu gösterilmektedir.

Genetik hayvan modelleri ve yeni tedavi yaklaşımlarına dair bulgular ise bu hastalığın tamamen çözülemeyecek bir sorun

olmadığını, aksine moleküler seviyede hedefleme stratejileriyle anlamlı ilerlemeler kaydedilebildiğini göstermektedir, özellikle mHTT ekspresyonunun baskılanmasının fenotipik iyileşme sağlayabilmesi ve agregatların ortadan kalkabilmesi ve nöronların belirli ölçüde toparlanabilmesi, gelecekte geliştirilecek terapiler açısından çok umut verici bir pencere açmaktadır.

KAYNAKÇA

- Andrade, M. A., & Bork, P. (1995). HEAT repeats in the Huntington's disease protein. *Nature genetics*, 11(2), 115-116.
- Bence, N. F., Sampat, R. M., & Kopito, R. R. (2001). Impairment of the ubiquitin-proteasome system by protein aggregation. *Science*, 292(5521), 1552-1555.
- Browne, S. E., Bowling, A. C., Macgarvey, U., Baik, M. J., Berger, S. C., Muquit, M. M., . . . Beal, M. F. (1997). Oxidative damage and metabolic dysfunction in Huntington's disease: selective vulnerability of the basal ganglia. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 41(5), 646-653.
- Davies, S. W., Turmaine, M., Cozens, B. A., DiFiglia, M., Sharp, A. H., Ross, C. A., . . . Bates, G. P. (1997). Formation of neuronal intranuclear inclusions underlies the neurological dysfunction in mice transgenic for the HD mutation. *Cell*, 90(3), 537-548.
- DiFiglia, M., Sapp, E., Chase, K., Schwarz, C., Meloni, A., Young, C., . . . Reeves, S. A. (1995). Huntingtin is a cytoplasmic protein associated with vesicles in human and rat brain neurons. *Neuron*, 14(5), 1075-1081.
- Feigin, A., Leenders, K. L., Moeller, J. R., Missimer, J., Kuenig, G., Spetsieris, P., . . . Eidelberg, D. (2001). Metabolic network abnormalities in early Huntington's disease: an [18F] FDG PET study. *Journal of Nuclear Medicine*, 42(11), 1591-1595.
- Graham, R. K., Deng, Y., Slow, E. J., Haigh, B., Bissada, N., Lu, G., . . . Murphy, Z. (2006). Cleavage at the caspase-6 site

is required for neuronal dysfunction and degeneration due to mutant huntingtin. *Cell*, 125(6), 1179-1191.

Gu, X., Li, C., Wei, W., Lo, V., Gong, S., Li, S.-H., . . . Mody, I. (2005). Pathological cell-cell interactions elicited by a neuropathogenic form of mutant Huntingtin contribute to cortical pathogenesis in HD mice. *Neuron*, 46(3), 433-444.

Harjes, P., & Wanker, E. E. (2003). The hunt for huntingtin function: interaction partners tell many different stories. *Trends in biochemical sciences*, 28(8), 425-433.

Hodgson, J. G., Agopyan, N., Gutekunst, C.-A., Leavitt, B. R., LePiane, F., Smith, D. J., . . . Jamot, L. (1999). A YAC mouse model for Huntington's disease with full-length mutant huntingtin, cytoplasmic toxicity, and selective striatal neurodegeneration. *Neuron*, 23(1), 181-192.

Huntington, G. (1872). On chorea.

Jenkins, B. G., Koroshetz, W. J., Beal, M. F., & Rosen, B. R. (1993). Evidence for impairment of energy metabolism in vivo in Huntington's disease using localized ¹H NMR spectroscopy. *Neurology*, 43(12), 2689-2689.

Kim, M. W., Chelliah, Y., Kim, S. W., Otwinowski, Z., & Bezprozvanny, I. (2009). Secondary structure of Huntingtin amino-terminal region. *Structure*, 17(9), 1205-1212.

Kim, Y. J., Yi, Y., Sapp, E., Wang, Y., Cuiffo, B., Kegel, K. B., . . . DiFiglia, M. (2001). Caspase 3-cleaved N-terminal fragments of wild-type and mutant huntingtin are present in normal and Huntington's disease brains, associate with membranes, and undergo calpain-dependent proteolysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(22), 12784-12789.

- Kordasiewicz, H. B., Stanek, L. M., Wancewicz, E. V., Mazur, C., McAlonis, M. M., Pytel, K. A., . . . Shihabuddin, L. S. (2012). Sustained therapeutic reversal of Huntington's disease by transient repression of huntingtin synthesis. *Neuron*, 74(6), 1031-1044.
- Kuwert, T., Lange, H. W., LANGEN, K.-J., Herzog, H., Aulich, A., & Feinendegen, L. E. (1990). Cortical and subcortical glucose consumption measured by PET in patients with Huntington's disease. *Brain*, 113(5), 1405-1423.
- Li, H., Li, S.-H., Yu, Z.-X., Shelbourne, P., & Li, X.-J. (2001). Huntingtin aggregate-associated axonal degeneration is an early pathological event in Huntington's disease mice. *Journal of Neuroscience*, 21(21), 8473-8481.
- MacDonald, M. E., Ambrose, C. M., Duyao, M. P., Myers, R. H., Lin, C., Srinidhi, L., . . . Groot, N. (1993). A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell*, 72(6), 971-983.
- Mangiarini, L., Sathasivam, K., Seller, M., Cozens, B., Harper, A., Hetherington, C., . . . Davies, S. W. (1996). Exon 1 of the HD gene with an expanded CAG repeat is sufficient to cause a progressive neurological phenotype in transgenic mice. *Cell*, 87(3), 493-506.
- Menalled, L. B. (2005). Knock-in mouse models of Huntington's disease. *NeuroRx*, 2(3), 465-470.
- Nørremølle, A., Budtz-Jørgensen, E., Fenger, K., Nielsen, J., Sørensen, S., & Hasholt, L. (2009). 4p16. 3 haplotype modifying age at onset of Huntington disease. *Clinical genetics*, 75(3), 244-250.
- Perutz, M. F., Johnson, T., Suzuki, M., & Finch, J. T. (1994). Glutamine repeats as polar zippers: their possible role in

inherited neurodegenerative diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(12), 5355-5358.

Tartari, M., Gissi, C., Lo Sardo, V., Zuccato, C., Picardi, E., Pesole, G., & Cattaneo, E. (2008). Phylogenetic comparison of huntingtin homologues reveals the appearance of a primitive polyQ in sea urchin. *Molecular biology and evolution*, 25(2), 330-338.

Vonsattel, J., & DiFiglia, M. (1997). Huntington disease.

Wang, J., Wang, C.-E., Orr, A., Tydlacka, S., Li, S.-H., & Li, X.-J. (2008). Impaired ubiquitin–proteasome system activity in the synapses of Huntington's disease mice. *The Journal of cell biology*, 180(6), 1177-1189.

Wellington, C. L., Ellerby, L. M., Gutekunst, C.-A., Rogers, D., Warby, S., Graham, R. K., . . . Gafni, J. (2002). Caspase cleavage of mutant huntingtin precedes neurodegeneration in Huntington's disease. *Journal of Neuroscience*, 22(18), 7862-7872.

Yamamoto, A., Lucas, J. J., & Hen, R. (2000). Reversal of neuropathology and motor dysfunction in a conditional model of Huntington's disease. *Cell*, 101(1), 57-66.

Yang, S.-H., Cheng, P.-H., Banta, H., Piotrowska-Nitsche, K., Yang, J.-J., Cheng, E. C., . . . Orkin, J. (2008). Towards a transgenic model of Huntington's disease in a non-human primate. *Nature*, 453(7197), 921-924.

Yang, W., Dunlap, J. R., Andrews, R. B., & Wetzel, R. (2002). Aggregated polyglutamine peptides delivered to nuclei are toxic to mammalian cells. *Human molecular genetics*, 11(23), 2905-2917.

Yu, D., Pendergraff, H., Liu, J., Kordasiewicz, H. B., Cleveland, D. W., Swayze, E. E., . . . Corey, D. R. (2012). Single-stranded RNAs use RNAi to potently and allele-

selectively inhibit mutant huntingtin expression. *Cell*, 150(5), 895-908.

Zuccato, C., Valenza, M., & Cattaneo, E. (2010). Molecular mechanisms and potential therapeutic targets in Huntington's disease. *Physiological reviews*, 90(3), 905-981.

İLAC SANAYİDE PROTEİNLERİN YERİ VE ÖNEMİ

Derya AKYILDIZ ÜSTÜNER¹

Huejda THARTORİ²

Cihan TANRIKUT³

Mehmet Cengiz ÜSTÜNER⁴

1. GİRİŞ

Proteinler çok önemli hayati fonksiyonlara sahip ve tüm canlılarda yer alan büyük yapıda biyomoleküllerdir. Bu makromoleküller aminoasitlerin birbirleriyle peptit bağlarıyla oluşmaktadırlar (Stollar & Smith, 2020). Bazı kritik görevlere de sahiptirler. Bunlardan bazıları biyolojik sistemlerde yapısal destek, sinyal iletimi ve katalitik aktivitedir (Koch & Schäfer, 2018).

Proteinler dört yapısal organizasyona sahiptir. Bunlar primer yapı, sekonder yapı, tersiyer yapı ve kuaterner yapı.

Primer yapılarıdaki proteinler aminoasitlerin belirli bir dizilimle peptid bağları ile birleşmesi ile oluşmaktadırlar ve zincir

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Hizmetler Ve Teknikler Bölümü, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Pr., Eskişehir/Türkiye, dustuner5@gmail.com, ORCID: 0000-0002-8511-946X

² MSc., Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Hücresel Tedavi ve Kök Hücre Üretim, Uygulama ve Araştırma Merkezi (ESTEM), Eskişehir/Türkiye, huejda_t@yahoo.com, ORCID: 0009-0005-1790-8407

³ Arş. Gör. Dr., Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir/Türkiye, chntnrkt@gmail.com, ORCID: 0000-0002-5692-1533

⁴ Prof. Dr., Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir/Türkiye, mcustuner@gmail.com, ORCID: 0000-0001-9802-3988

şeklinde görülmektedirler (Stollar & Smith, 2020). Sekonder yapıdaki proteinler ise hidrojen bağlarının etkisiyle oluşan α -heliks ve β -tabaka gibi yapıların oluşmasıyla meydana gelir. Bunlar daha düzenli yapılar olmaktadır (Koch & Schäfer, 2018). Tersiyer yapıdaki proteinler aslında proteinin üç boyutlu formudur. Bu yapıda proteinin üç boyutlu konformasyonu belirlenip fonksiyonel hale gelmektedir (Stollar & Smith, 2020). Kuaterner yapıdaki proteinler ise birden fazla polipeptid zincirinin oluşturduğu daha kompleks yapılardır (Janin, Bahadur, & Chakrabarti, 2008). Proteinlerin ilaç sanayide kullanımı çoğunlukla tersiyer ve kuaterner formdaki proteinlerle görülmektedir. Bu yapılar özellikle taşıyıcı sistem olarak son zamanlarda önemli araştırmaların ve gelişmelerin konusu olmuştur (Schweke vd., 2024).

2. PROTEİNLERİN KİMYASAL VE MOLEKÜLER ÖZELLİKLERİ

Proteinlerin ilaç sanayide kullanımını belirleyen en etkili faktörleri taşıdıkları özelliklerinden dolayıdır. Protein yapıların kimyasal özellikleri olmakla beraber, bu özellikleri sağlayan aminoasit bileşimleri ve yan zincirlerdeki fonksiyonel gruplardır (Jayakrishnan vd., 2024). Hidrofilik, hidrofobik, bazik ve asidik aminoasitler, proteinin suda çözünübilirliğini ve fonksiyonunu belirlemektedir. Proteinlerin katlanma mekanizmaları ise moleküller arası hidrojen bağlarından, Van der Waals kuvvetleri ve iyonik etkileşimler tarafından yönlendirilmektedir (Jayakrishnan vd., 2024).

Enzimler olarak proteinler biyokimyasal reaksiyonların hızlandırılmasında büyük önem taşımaktadırlar. Ayrıca hücresel iskeletin oluşturulmasında da çok önemli bir rol oynamaktadırlar. Bir örnekle açıklamak gerekirse hemoglobin proteininin görevi

oksijen taşıma iken, kollajen bağ doku yapısını desteklemekle görevlidir (Jayakrishnan vd., 2024).

Ama proteinlerin katlanmaları ile ilgili sorunlar, herhangi bir yapısal bozuklukları veya protein eksikliği çok çeşitli hastalıklara yol açabilmektedir. Bu bağlamda proteinler ve onların ilaç sanayide etkilerinin araştırılması, biyoteknolojik ve tıbbi araştırmalar açısından çok kritik bir noktada yer almaktadır.

3. PROTEİN BAZLI İLAÇLAR

Modern biyoteknolojinin en önemli gelişmelerinden ve çalışmalarından biri protein bazlı ilaçlar olmaktadır. 20. yüzyılın başlarında küçük molekülü ilaçlardan büyük molekülü ilaçlara doğru bir kayma başlamış olup bilimsel ilaç keşifleri yapılmıştır. Bu gelişme ile de geleneksel tedavi yöntemlerinin yerini bilimsel ilaçlar almıştır (Jayakrishnan vd., 2024). Bu üretim süreçlerinin tarihsel olarak gelişimi tek kullanımlık biyoreaktör teknolojileri ile hızlanmış olup protein bazlı formülasyonlarda jelatin nanopartikül hazırlama teknikleri önemli bir rol oynamıştır (Lee, Khan, Park, & Lim, 2012; Rader & Langer, 2019).

Bu gelişmelerin en önemli ve kritik dönüm noktası da rekombinant DNA (rDNA) teknolojisidir. Bu teknolojinin ortaya çıkmasıyla, terapötik proteinlerin üretimi için önemli olması ve kullanılmasından kaynaklı proteinlerin ilaç alanında da önü açılmıştır. İlk kez rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak insan insülini (Humulin) üretilmiştir. Bu önemli gelişme 1982 yılında gerçekleşmiştir ve ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından da onay almıştır ve piyasaya sürülmüştür (Jayakrishnan vd., 2024).

Fakat bu teknolojinin gelişimin getirdiği olanaklar sadece bu kadarla kalmamıştır. Bunun yanı sıra somatotropin interferonlar ve sitokinler gibi terapötik proteinlerin sanayi

boyutlarında üretimini de sağlamıştır. Bu gelişmeler sayesinde kanser tedavileri ve otoimmün hastalıklarda yeni nesil biyolojik ajanların geliştirilmesini teşvik etmiştir. Bu teknoloji özellikle metabolik hastalıkların tedavilerinde önemli bir yer almıştır.

Biyoteknolojik protein ilaçların üretimi ve kullanımı son yıllarda artış göstermiştir ve 2025 yılına kadar pazar büyüklüğü 217,5 milyar dolar seviyesinde ulaşması beklenmektedir. Bu artışın sebebi ise başlıca kronik hastalıkların yaygınlaşmasıdır ama bir diğer etken de biyolojik inovasyonların terapötik proteinlerin üretimini daha verimli hale getirmiş olmasıdır (Jayakrishnan vd., 2024).

Gelecekte protein bazlı terapötiklerin daha spesifik ve etkili hale getirilmesi için moleküler düzeyde özelleştirme yöntemlerinin geliştirilmesi beklenmektedir.

3.1. Rekombinant DNA (Rdna) Teknolojisi Ve Protein Üretimi

Rekombinant DNA teknolojisi belirli bir proteinin üretimi için genetik mühendislik teknikleri kullanılarak genetik materyalin yeniden düzenlenmesini sağlayan bir yöntemdir. Bu teknolojinin sunduğu en büyük avantajlardan biri doğada sınırlı miktarda bulunan terapötik proteinlerin endüstriyel ölçekte üretilmesidir (Jayakrishnan vd., 2024). Bu teknoloji ile çeşitli organizmaların genetik modifikasyonu yapılarak bakteriler, mayalar ve memeli hücrelerden insan proteinleri üretilmesi mümkün olmaktadır. Protein bazlı biyofarmasötiklerin üretiminde mikrobiyal konak sistemleri daha da fazla tercih edilmektedir (Jayakrishnan vd., 2024). Bu süreçler metabolik mühendislik, genetik optimizasyon ve fermentasyon teknolojisi gibi bazı unsurları içermektedir. Rekombinant protein saflaştırma aşamalarında hücre lizati işlemleri kritik öneme sahip olmaktadır (Mićić, Whyte, & Karsten, 2016). Üretilen protein taşıyıcı

sistemlere entegre edilmesi terapötik etkinliği arttırabilme potansiyeline sahiptir. (Ma vd., 2017).

Üretim sistemlerinde çokça kullanılan mikrobiyal konaklar arasında bakteriler, memeli hücreler ve mayalar vardır. *Escherichia coli* birçok alanda yaygın olarak kullanılan bir bakteri olmaktadır. Bu gibi bakteriler, hızlı büyümeleri ve genetik manipölasyonlara uygunlukları nedeniyle yaygın olarak tercih edilirken, mayalar ve memeli hücreleri, post-translasyonel modifikasyon yapabilme yetenekleri sayesinde daha kompleks proteinlerin üretiminde kullanılmaktadır (Jayakrishnan vd., 2024).

Rekombinant protein üretimi, başlıca üç temel aşamada gerçekleştirilmektedir. Birinci aşama upstream sürecidir. Bu aşamada hedef proteini kodlayan gen uygun bir vektöre klonlanır ve ekspresyon konak sistemine aktarılır. Ardından, konak hücrelerin seçilmesi ve uygun büyüme koşullarının belirlenmesi sağlanarak fermentörlerde büyük ölçekli üretim optimize edilmektedir. Downstream süreci, rekombinant proteinin saflaştırılmasını ve endüstriyel ölçekte biyofarmasötik olarak kullanıma uygun hale getirilmesini kapsamaktadır. Son olarak, formölasyon ve son ürün aşamasında, proteinin stabilitesi test edilip klinik kullanıma uygun hale getirilmesi sağlanmaktadır.

Rekombinant protein üretiminde verimliliği arttırmak için genetik mühendislikte farklı stratejiler kullanılmaktadır. Promoter mühendisliği, protein ekspresyonunun verimini arttırmak için güçlü promotörlerin kullanılmasını sağlamaktadır. Sekresyon sinyalleri proteinin hücre dışına salgılanmasını kolaylaştırmaktadır (Jayakrishnan vd., 2024). Hatta protein katlanma optimizasyonu ile biyolojik aktivitesi yüksek proteinlerin üretimi sağlanırken, metabolik mühendislik sayesinde hücre metabolizması modifiye edilerek protein üretim kapasitesi arttırılmaktadır.

3.2. Günümüzde Kullanılan Biyoteknolojik Proteinlerin Sınıflandırılması

Biyoteknolojik proteinler çok olmakla birlikte kullanım amaçlarına göre, tanısal ve terapötik yönlerine göre farklı kategorilere ayrılmaktadır. Bu proteinler genetik mühendislik ve rekombinant DNA teknolojisi sayesinde birçok optimizasyon aşamasından geçirilerek birçok hastalığın tedavisinde, biyomedikal alanda yapılan araştırmalarda ve sanayi üretim süreçlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Jayakrishnan vd., 2024). Protein-nanopartikül yüzeyinde oluşan korona yapısı terapötik etkiyi doğrudan etkileyebilmektedir (Cai & Chen, 2019), ayrıca biyouyumlu nanopartiküller kanser hücrelerini hedeflemede önemli avantaj sağlamaktadır (Ovais, Guo, & Chen, 2019).

Sınıflandırma aşağıda belirtildiği gibi olmaktadır:

1. Terapötik Proteinler
2. Tanısal (Diagnostik) Proteinler
3. Endüstriyel Proteinler
4. Aşı Bileşenleri ve Biyoteknolojik Antijenler

3.2.1. Terapötik Proteinler

Bu tür proteinler farmasötik endüstride çok büyük önem arz etmektedir ve ayrıca hastalıkların tedavisinde en çok kullanılan uygulamadır. Bu gruba dahil olan proteinler genel olarak bahsedecek olursak enzimler, monoklonal antikorlar, hormonlar ve sitokinler olmaktadır. Monoklonal antikorlar (örn: rituksimab, trastuzumab), kanser ve otoimmün hastalıkların tedavisinde önemli bir rol oynamaktadırlar (Jayakrishnan vd., 2024). Eritroprotein veya Rekombinant insülin gibi proteinler ise anemi ve diyabet tedavilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

3.2.2. Tanısal (Diagnostik) Proteinler

Tanısal proteinler adından da anlaşılacağı üzere hastalıkların belirlenmesi için geliştirilmiş biyoteknolojik proteinlerdir. Biyomedikal alanda yapılan araştırmalarda da kullanımı oldukça yaygın ve etkili olmaktadır ki son yıllarda bu alanda yapılan birçok biyomedikal araştırmada kullanımı tercih edilmektedir. Bu proteinler genel olarak enzimler, floresan belirteçler ve antikorlar olarak kullanılmaktadır (Jayakrishnan vd., 2024). Buna örnek ELISA testleri verilebilmektedir. Bu testler de antikor bazlı proteinler kullanılarak spesifik hastalık belirteçlerinin tespit edilmesini sağlamaktadır. Bazı moleküler biyoloji teknikleriyle de, örneğin: polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yönteminde biyoteknolojik proteinlerden yararlanılmaktadır.

3.2.3. Endüstriyel Proteinler

Biyoteknolojik süreçlerde olduğu kadar çevresel uygulamalarda da kullanılan proteinler vardır. Bu proteinler genel olarak enzim formlarındadır. Deterjan, gıda, kâğıt ve tekstil endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Biyoçözünür deterjan formülasyonlarında amilaz, proteaz ve lipaz gibi enzimler tercih edilirken, kâğıt endüstrisinde liflerin işlenmesi için selüloz enzimleri tercih edilmektedir.

3.2.4. Aşı bileşenleri ve Biyoteknolojik Antijenler

Rekombinant DNA teknolojisi ile geliştirilen biyoteknolojik proteinler olup modern aşı teknolojilerinde özellikle son yıllarda çok önemli bir yer almaktadırlar. Rekombinant ekspresyonu yoluyla geliştirilen bazı aşı ve viral proteinlere örnek verecek olursak Hepatit B ve insan papilloma virüsü (HPV) aşıları bu açıdan önemli bir yere sahiptir (Jayakrishnan vd., 2024). Özellikle de pandemi dönemlerinde rekombinant protein bazlı aşılar daha da büyük önem kazanmıştır.

Bu anlamda biyoteknolojik proteinlerin kullanım alanları gün geçtikçe genişlemektedir. Ayrıca genetik mühendislik ve biyoinformatik alanlardaki ilerlemelerle daha kompleks ve spesifik proteinlerin geliştirilmesi mümkündür. Öngörüler de gelecek vaad eden bir teknoloji olmasından dolayı biyoteknolojik proteinlerin farmasötik, tanısal ve endüstriyel alanda kullanımı artacağı yönündedir (Jayakrishnan vd., 2024).

4. PROTEİN STABİLİZASYONU

Protein stabilizasyonu, biyofarmasötiklerin güvenli ve etkin kullanılabilmesi için kritik bir gerekliliktir. Proteinler yapısal olarak son derece hassastır ve çevresel koşullara karşı duyarlıdır (Ferraro vd., 2024). Özellikle sıcaklık değişimleri, pH dalgalanmaları, oksidatif stres ve mekanik kuvvetler, proteinlerin yapısını bozabildiği gibi, fonksiyonlarını kaybetmelerine de yol açabilmektedir. Bu yüzden, protein stabilitesinin sağlanması hem biyofarmasötiklerin raf ömrünün uzatılması hem tedavi edici etkilerinin korunması açısından büyük önem taşımaktadır (Ferraro vd., 2024).

Protein stabilizasyonunda kolajen temelli taşıyıcı sistemleri ve hidrojel yapılar da kullanılmaktadır. Kolajen temelli taşıyıcı sistemlerinde yapısal bütünlüğün korunması tedavi etkinliği için kritik bir öneme sahiptir (Rathore vd., 2020).

Protein stabilizasyonunu sağlayan proteinlerin kendi kendine montaj davranışları sergilemeleridir. Bu yetenekleri yani proteinlerin kendi kendine montaj davranışları nano-yapı oluşumunda belirleyici etki sunmaktadır (Suresh, Suresh, & Kannan, 2022).

Proteinlerin üç boyutlu yapısını koruyamaması, terapötik etkinliklerini yitirmelerine neden olabilmektedir ve stabilizasyonun sağlanamaması durumunda, protein bazlı ilaçlar

biyolojik aktivitesini kaybedebilmektedir. Bazen istenmeyen yan etkilere de yol açabilmektedir. Özellikle parenteral yolla uygulanan biyofarmasötiklerde stabilite kaybı, immünojenisiteyi artırarak hasta güvenliğini riske atabilmektedir (Ferraro vd., 2024).

4.1. Protein Stabilizasyon Mekanizmaları

Protein stabilizasyonu çeşitli kimyasal ve fiziksel mekanizmalar aracılığıyla sağlanabilir:

4.1.1. Hidrojen Bağları: Sekonder yapıların oluşumunda kritik rol oynamaktadır ve proteinin genel stabilitesine katkıda bulunmaktadır.

4.1.2. Hidrofobik Etkileşimler: Hidrofobik yan zincirlerin su ile temasını en aza indirmek için proteinlerin iç kısımlarına doğru yönelmesi stabilizasyon açısından önem arz etmektedir.

4.1.3. Disülfid Bağları: Kükürt içeren amino asitler arasında oluşan kovalent bağlar olup proteinin katlanmasını güçlendiren kritik faktörlerden biridir.

4.1.4. İyonik Bağlar: Karşıt yüklü amino asitler arasında oluşan elektrostatik etkileşimlerdir. Bu bağlar proteinin yapısını sabitlemeye yardımcı olmaktadır.

Bu stabilizasyon mekanizmalarının herhangi birinde bozulma meydana geldiğinde, proteinler denatüre olur ve agregasyona yatkın hale gelmektedir (Lundahl, Fogli, Colavita, & Scanlan, 2021; Zuma, Gasa, Makhoba, & Poole, 2022). Bu nedenle, biyofarmasötik ilaç formülasyonlarında protein stabilizasyonunu artırıcı stratejilerin uygulanması gerekli ve zorunludur (Lundahl vd., 2021).

5. AGREGASYON PROBLEMLERİ, TERAPÖTİK ETKİLERİ VE ÇÖZÜM STRATEJİLERİ

Agregasyon biyofarmasötik ürünlerde en yaygın karşılaşılan stabilite problemlerinden biridir. Agregasyon, protein-protein etkileşimleri sonucu büyük moleküler komplekslerin oluşmasıdır ve biyofarmasötiklerin etkinliğini doğrudan etkileyebilmektedir (Ferraro vd., 2024). Bu süreç, yanlış katlanmış proteinlerin bir araya gelmesiyle tetiklenebilmekte olup zamanla çözünmeyen partiküller oluşmasına neden olabilmektedir. Agregasyon mekanizmaları arasında hidrofobik etkileşimler, elektrostatik çekimler ve kovalent bağlanmalar yer almaktadır (Ferraro vd., 2024).

Agregat oluşumu, biyoyararlanımı düşürebilir ve ilaçların farmakokinetik özelliklerini değiştirebilmektedir. Daha da önemlisi, immünojenisiteyi artırarak hastalarda beklenmeyen bağışıklık yanıtlarına yol açabilmektedir. Hastalarda antikor üretimini tetikleyen agregatlar, biyofarmasötiklerin terapötik etkinliğini azaltabilir ve bazı durumlarda ciddi advers reaksiyonlara neden olmaktadır. Bu sebeple, agregasyonu önlemek ve kontrol altına almak, biyofarmasötik ilaç geliştirme süreçlerinde büyük bir öncelik olarak ele alınmaktadır (Ferraro vd., 2024).

Agregasyon gibi stabilite sorunlarını gidermek için bazı çözüm stratejileri kullanılmakta olup genel olarak kimyasal modifikasyon teknikleri ve formülasyon yaklaşımları olarak iki ana başlık altında ele alınmaktadır.

5.1. Kimyasal Modifikasyon Teknikleri

5.1.1. PEGilasyon (Polietilen Glikol Eklenmesi):

Proteinlere polietilen glikol eklenmesi (PEGilasyon) proteinlerin hidrofobik yüzey alanlarını kapatarak agregasyonu önleyebilir. Ayrıca, PEGilasyon proteinin dolaşımdaki yarı ömrünü uzatabilir ve immünojenisite riskini azaltabilmektedir (Zuma vd., 2022).

5.1.2. Kovalent apraz Bağlanma: Bazı protein stabilizasyon yöntemleri, kovalent çapraz bağlanmalar oluşturularak proteinlerin üç boyutlu yapısının korunmasını hedefler. Bu teknik, özellikle mekanik strese maruz kalan proteinlerin stabilitesini artırmak için kullanılmaktadır (Lundahl vd., 2021).

5.1.3. Amino Asit Modifikasyonları: Proteinlerin belirli amino asit kalıntılarında yapılan modifikasyonlar, oksidasyon ve enzimatik parçalanmaya karşı koruma sağlayarak stabiliteyi artırmaktadır (Zuma vd., 2022).

5.2. Formölasyon Teknikleri

5.2.1. pH Optimizasyonu: Protein özeltilerinin optimal pH değerlerinde formöl edilmesi, agregasyon riskini minimize etmek için kritik bir stratejidir. Proteinlerin en stabil olduğu pH aralığı belirlenerek bu aralıkta formölasyon hazırlanmalıdır (Lundahl vd., 2021).

5.2.2. İyonik Kuvvet Ayarlaması: Tuz konsantrasyonlarının optimize edilmesi, elektrostatik etkileşimleri düzenleyerek protein stabilitesini artırmaktadır (Lundahl vd., 2021).

5.2.3. Stabilizatör Kullanımı: Şekerler, polialkoller ve yüzey aktif maddelerin protein stabilitesini artırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu bileşenler, proteinlerin doğal yapısını koruyarak agregasyonu engellemektedir (Thakral, Sonje, Munjal, & Suryanarayanan, 2021).

5.2.4. Liyofilizasyon (Dondurarak Kurutma): Protein özeltilerinin liyofilize edilmesi, uzun vadeli saklama stabilitesini artırmak için kullanılan en etkili ve en yaygın yöntemlerden biridir. Liyofilizasyon sırasında uygun kriyoprotektanlar eklenerek proteinlerin yapısal bütünlüğü korunmaktadır (Thakral vd., 2021).

6. PROTEİN NANOPARTİKÜLLERİ VE TAŞIYICI SİSTEMLER

Protein bazlı nanopartiküller, biyolojik ilaç taşıyıcı sistemler içinde, özellikle son zamanlarda önemli bir yer tutmaktadır. Proteinler, biyoyumlu ve biyobozunur olmaları nedeniyle ilaç iletiminde ideal adaylar olarak görülmektedir ve terapötik ajanları belirli bir hedef bölgeye iletmek, ilaçların sistemik dolaşımdaki stabilitesini artırmak ve istenmeyen yan etkileri en aza indirmek amacıyla tasarlanmıştır (Rahban vd., 2023). Özellikle albümin, jelatin, fibrinojen gibi doğal proteinler nanopartikül üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Albümin biyolojik taşıyıcılık ve membran ara yüzeyi arasında kritik rol oynamaktadır (Van De Wouw & Joles, 2022; Xiong vd., 2024). Jelatin nanopartiküller emülsiyon stabilizasyonunda yapısal ajan olarak işlev görebilmektedir (Tan, Zhang, Han, Zhang, & Ngai, 2022). Protein nanopartiküllerinin hazırlanmasında çökeltme, çapraz bağlama ve elektrostatik kompleksleme gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Rahban vd., 2023). pH duyarlı taşıyıcı sistemler hedefli ilaç salınımını mümkün kılmaktadır (Yue, Ding, Hu, Zhang, & Cheng, 2024). Protein bazlı mikroküreler ise kontrollü salım mekanizmalarını desteklemektedir (Zhang, Wang, Wang, & Zhang, 2019). Folat yani folik asit/B9 vitaminine duyarlı nanopartikül sistemleri kanser hücresi hedeflemede etkinlik sağlamaktadır (Das vd., 2020; Hanafy, Abdelbadea, Abdelaziz, & Mazyed, 2023; Jiang vd., 2020).

Protein bazlı taşıyıcı sistemlerin başlıca avantajları arasında ilaçların kontrollü salınımını sağlamaları, hedef dokuya spesifik bağlanabilmeleri ve vücutta doğal yollarla metabolize olabilmeleri bulunmaktadır ve diğer bir önemi de terapötik ajanların çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını artırarak ilaç etkinliğini optimize etmesidir (Rahban vd., 2023).

7. HÜCRE HEDEFLEME MEKANİZMALARI

Hücre hedefleme mekanizmaları pasif ve aktif hedefleme olarak iki ana gruba ayrılmaktadır. Pasif hedefleme, nanopartiküllerin tümör dokusu gibi belirli bölgelerde birikmesini sağlayan fizikokimyasal özelliklerinden faydalanarak gerçekleştirilmektedir. Özellikle, tümörlerde görülen “gelişmiş geçirgenlik ve retansiyon (EPR) etkisi” sayesinde nanopartiküller hedef bölgeye pasif olarak ulaşmaktadır (Rahban vd., 2023).

Aktif hedefleme ise, ilaç taşıyıcı sistemlerin yüzeyine belirli ligandlar (antikorlar, peptidler veya şeker zincirleri) eklenmesiyle gerçekleştirilmektedir. Bu ligandlar, hücre yüzeyinde bulunan spesifik reseptörlere bağlanarak hedef hücreye ilaç iletimini artırmaktadır. Buna örnek, transferrin veya folat reseptörleri ile etkileşime giren protein bazlı nanopartiküller, kanser hücrelerine spesifik olarak bağlanarak ilaç yükünü doğrudan tümör dokusuna ulaştırmasıdır (Rahban vd., 2023).

8. PROTEİN BAZLI İLAÇ İLETİM SİSTEMLERİNİN MEKANİZMASININ İŞLEYİŞİ

Protein bazlı ilaç iletim sistemlerinin işleyişi, taşıyıcı nanopartikülün sistemik dolaşıma girmesiyle başlamaktadır. Taşıyıcı sistemler öncelikle biyolojik engelleri aşarak hedef dokuya ulaşmalıdır (Rahban vd., 2023). Bu süreç, vücutta dolaşan protein nanopartiküllerin belirli bir biyolojik yanıt oluşturmasıyla devam etmektedir.

Nanopartikülün yüzeyindeki biyoyumlu kaplamalar, sistemik dolaşımdaki makrofajlar tarafından hızla uzaklaştırılmasını önler ve nanopartikülün dolaşım süresini uzatmaktadır. Daha sonra, taşıyıcı sistem hedef hücreye

bağlanarak endositoz yoluyla hücre içine alınmaktadır. Endozomal kaçış mekanizmaları sayesinde nanopartikül, lizozomal parçalanmadan kaçarak ilacın sitoplazmaya veya hücre çekirdeğine ulaşmasını sağlamaktadır. Böylece, ilaç kontrollü bir şekilde salınarak terapötik etkisini göstermektedir.

Protein bazlı ilaç taşıyıcı sistemler, ilaç dağıtımında devrim niteliğinde yenilikler sunarak terapötik etkinliği artıran birçok avantaja sahiptir (Rahban vd., 2023). Öncelikle, biyouyumluluk ve biyobozunurluk özellikleri sayesinde, bu sistemler vücut tarafından kolaylıkla tolere edilir ve doğal metabolik yollarla parçalanarak atılabilir. Kimyasal sentetik polimerlere kıyasla, protein bazlı taşıyıcılar biyolojik ortamda daha az toksisite gösterir ve uzun vadeli kullanım açısından güvenlidir (Johnson vd., 2025). Bu özellikleri sayesinde, özellikle kronik hastalıkların tedavisinde tercih edilen sistemler arasında yer almaktadır.

Bir diğer önemli avantaj kontrollü ilaç salınımı sağlamalarıdır. Protein nanopartikülleri, ilaç yükünü hedef dokuya belirli bir zaman aralığında serbest bırakarak terapötik etkinliği optimize eder (Rahban vd., 2023). Bu, hem ilacın biyoyararlanımını artırır hem de hastanın sık doz alımına olan ihtiyacını azaltır. Örneğin, konvansiyonel ilaç formülasyonlarında ilacın hızla metabolize olması nedeniyle sık doz alımı gerekirken, protein bazlı taşıyıcılar ilacın daha uzun süre etkili kalmasını sağlayarak tedavi sürecini kolaylaştırır (Johnson vd., 2025).

Bu sistemler ayrıca hücre hedefleme mekanizmaları ile ilaçların belirli hücrelere veya dokulara yönlendirilmesini sağlayarak etkinliği artırır. Hedefe yönelik bu taşıma mekanizmaları sayesinde ilaçlar, sağlıklı hücrelere zarar vermeden doğrudan hastalıklı bölgelere ulaşır (Johnson vd., 2025). Örneğin, kanser tedavisinde kullanılan protein bazlı

nanopartiküller, kanser hücrelerinin yüzeyinde bulunan spesifik reseptörlere bağlanarak kemoterapötik ilaçların sağlıklı hücrelere zarar vermesini önler. Bu, özellikle kanser gibi hassas tedavi gerektiren hastalıklarda büyük bir avantaj sağlar (Rahban vd., 2023).

Yan etkilerin azaltılması da protein bazlı ilaç taşıyıcı sistemlerin en önemli avantajlarından biridir. Geleneksel ilaç tedavilerinde, ilaçların sistemik dolaşıma yayılması nedeniyle istenmeyen yan etkiler sıkça görülmektedir (Rahban vd., 2023). Ancak protein bazlı nanopartiküller, ilacı doğrudan hedef hücrelere ilettiğinden, sağlıklı dokular üzerindeki yan etkileri minimize eder. Bu durum, hastaların tedaviye uyumunu artırarak yaşam kalitesini olumlu yönde etkiler (Johnson vd., 2025).

Biyoyararlanımın artırılması bu sistemlerin sunduğu bir diğer önemli avantajdır. Suda çözünürlüğü düşük olan ilaçlar, genellikle vücutta yeterince emilemez ve bu da terapötik etkilerini sınırlar. Protein bazlı taşıyıcılar, bu ilaçların çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını artırarak etkinliklerini maksimize eder. Böylece, ilaç daha düşük dozlarda bile etkili olabilir, bu da doz bağımlı yan etkilerin önüne geçilmesine yardımcı olur (Rahban vd., 2023).

9. SONUÇ

Proteinlerin ilaç sanayisindeki temel rolünü, yapısal özelliklerinden başlayarak rekombinant DNA teknolojisine, biyoteknolojik protein sınıflandırmalarına ve modern protein bazlı ilaç taşıyıcı sistemlere kadar geniş bir perspektiften incelenmiştir. Araştırmanın kazandırdığı bilgi kapsamında, proteinlerin yalnızca biyolojik yapılarda temel görevler üstlenen moleküller değil, aynı zamanda terapötik uygulamalarda, tanısal yöntemlerde ve endüstriyel süreçlerde vazgeçilmez araçlar olduğu görülmektedir. Özellikle rekombinant DNA

teknolojisinin gelişimiyle birlikte terapötik protein üretiminin büyük ölçüde hızlandığı ve bu sayede birçok hastalığın tedavisinde yeni nesil biyolojik çözümlere öncülük ettiği görülmektedir.

Bununla birlikte, protein bazlı nanopartikül taşıyıcı sistemlerin günümüzde giderek daha fazla önem kazandığı ve ilaç etkinliğini artıran yenilikçi avantajlar sunduğu gösterilmektedir. Biyouyumluluk, kontrollü salım, hedefe yönelik ilaç iletimi ve yan etkilerin azaltılması gibi özellikler, bu sistemlerin hem araştırma hem klinik uygulamalarda önemi vurgulanarak araştırmalarda daha çok yer verilmesi gereken bir alan olduğu görülmektedir. Proteinlerin, biyofarmasötik alanının temelini oluşturan gelecekte de tedavi stratejilerini şekillendirecek güçlü biyolojik araçlar olacağı açıktır. Bu nedenle protein temelli yaklaşımların, özellikle kişiselleştirilmiş tıp, kanser tedavisi ve gelişmiş ilaç taşıma platformlarında önümüzdeki yıllarda daha da değer kazanacağı öngörülmektedir.

KAYNAKÇA

- Cai, R., & Chen, C. (2019). The crown and the scepter: roles of the protein corona in nanomedicine. *Advanced Materials*, 31(45), 1805740.
- Das, R. P., Chakravarti, S., Patel, S. S., Lakhamje, P., Gurjar, M., Gota, V., . . . Kunwar, A. (2020). Tuning the pharmacokinetics and efficacy of irinotecan (IRI) loaded gelatin nanoparticles through folate conjugation. *International Journal of Pharmaceutics*, 586, 119522.
- Ferraro, C., Dattilo, M., Patitucci, F., Prete, S., Scopelliti, G., Parisi, O. I., & Puoci, F. (2024). Exploring protein-based carriers in drug delivery: a review. *Pharmaceutics*, 16(9), 1172.
- Hanafy, N. A., Abdelbadea, R. H., Abdelaziz, A. E., & Mazyed, E. A. (2023). Formulation and optimization of folate-bovine serum albumin-coated ethoniosomes of pterostilbene as a targeted drug delivery system for lung cancer: In vitro and in vivo demonstrations. *Cancer Nanotechnology*, 14(1), 49.
- Janin, J., Bahadur, R. P., & Chakrabarti, P. (2008). Protein–protein interaction and quaternary structure. *Quarterly reviews of biophysics*, 41(2), 133-180.
- Jayakrishnan, A., Wan Rosli, W. R., Tahir, A. R. M., Razak, F. S. A., Kee, P. E., Ng, H. S., . . . Tan, C. S. (2024). Evolving paradigms of recombinant protein production in pharmaceutical industry: a rigorous review. *Sci*, 6(1), 9.
- Jiang, H., Liang, G., Dai, M., Dong, Y., Wu, Y., Zhang, L., . . . Qi, L. (2020). Preparation of doxorubicin-loaded collagen-PAPBA nanoparticles and their anticancer efficacy in ovarian cancer. *Annals of Translational Medicine*, 8(14), 880.

- Johnson, M. B., Jain, S., McMillan Shea, J., Krueger, Q., Doe, E., Miller, D., . . . Halman, J. (2025). From Sequence to Response: AI-Guided Prediction of Nucleic Acid Nanoparticles Immune Recognitions. *Small*, e09459.
- Koch, I., & Schäfer, T. (2018). Protein super-secondary structure and quaternary structure topology: theoretical description and application. *Current Opinion in Structural Biology*, 50, 134-143.
- Lee, E. J., Khan, S. A., Park, J. K., & Lim, K.-H. (2012). Studies on the characteristics of drug-loaded gelatin nanoparticles prepared by nanoprecipitation. *Bioprocess and biosystems engineering*, 35(1), 297-307.
- Lundahl, M. L., Fogli, S., Colavita, P. E., & Scanlan, E. M. (2021). Aggregation of protein therapeutics enhances their immunogenicity: causes and mitigation strategies. *RSC chemical biology*, 2(4), 1004-1020.
- Ma, N., Liu, J., He, W., Li, Z., Luan, Y., Song, Y., & Garg, S. (2017). Folic acid-grafted bovine serum albumin decorated graphene oxide: an efficient drug carrier for targeted cancer therapy. *Journal of Colloid and Interface Science*, 490, 598-607.
- Mičić, M., Whyte, J. D., & Karsten, V. (2016). High performance bead beating based lysing, homogenization and grinding for DNA, RNA and proteins extraction with FastPrep® systems. In *Sample Preparation Techniques for Soil, Plant, and Animal Samples* (pp. 99-116): Springer.
- Ovais, M., Guo, M., & Chen, C. (2019). Tailoring nanomaterials for targeting tumor-associated macrophages. *Advanced Materials*, 31(19), 1808303.
- Rader, R. A., & Langer, E. S. (2019). Single-use technologies in biopharmaceutical manufacturing: A 10-year review of

trends and the future. *Single-use technology in biopharmaceutical manufacture*, 193-200.

Rahban, M., Ahmad, F., Piatyszek, M. A., Haertlé, T., Saso, L., & Saboury, A. A. (2023). Stabilization challenges and aggregation in protein-based therapeutics in the pharmaceutical industry. *RSC advances*, 13(51), 35947-35963.

Rathore, P., Arora, I., Rastogi, S., Akhtar, M., Singh, S., & Samim, M. (2020). Collagen nanoparticle-mediated brain silymarin delivery: an approach for treating cerebral ischemia and reperfusion-induced brain injury. *Frontiers in neuroscience*, 14, 538404.

Schweke, H., Pacesa, M., Levin, T., Goverde, C. A., Kumar, P., Duhoo, Y., . . . Ovchinnikov, S. (2024). An atlas of protein homo-oligomerization across domains of life. *Cell*, 187(4), 999-1010. e1015.

Stollar, E. J., & Smith, D. P. (2020). Uncovering protein structure. *Essays in biochemistry*, 64(4), 649-680.

Suresh, D., Suresh, A., & Kannan, R. (2022). Engineering biomolecular systems: Controlling the self-assembly of gelatin to form ultra-small bioactive nanomaterials. *Bioactive Materials*, 18, 321-336.

Tan, H., Zhang, R., Han, L., Zhang, T., & Ngai, T. (2022). Pickering emulsions stabilized by aminated gelatin nanoparticles: Are gelatin nanoparticles acting as genuine Pickering stabilizers or structuring agents? *Food Hydrocolloids*, 123, 107151.

Thakral, S., Sonje, J., Munjal, B., & Suryanarayanan, R. (2021). Stabilizers and their interaction with formulation components in frozen and freeze-dried protein formulations. *Advanced drug delivery reviews*, 173, 1-19.

- Van De Wouw, J., & Joles, J. A. (2022). Albumin is an interface between blood plasma and cell membrane, and not just a sponge. *Clinical Kidney Journal*, 15(4), 624-634.
- Xiong, B., Liu, H., Yi, M., Li, Y., Huang, Y., Guo, W., . . . Lu, B. (2024). A pH/GSH dual-responsive, Folic acid targeted drug delivery system based on Bovine serum albumin nanoparticles for cancer therapy. *Particle & Particle Systems Characterization*, 41(6), 2300184.
- Yue, C., Ding, C., Hu, M., Zhang, R., & Cheng, B. (2024). Collagen/functionalized cellulose nanofibril composite aerogels with pH-responsive characteristics for drug delivery system. *International Journal of Biological Macromolecules*, 261, 129650.
- Zhang, W., Wang, X.-c., Wang, J.-j., & Zhang, L.-l. (2019). Drugs adsorption and release behavior of collagen/bacterial cellulose porous microspheres. *International Journal of Biological Macromolecules*, 140, 196-205.
- Zuma, L. K., Gasa, N. L., Makhoba, X. H., & Poee, O. J. (2022). Protein PEGylation: navigating recombinant protein stability, aggregation, and bioactivity. *Biomed Research International*, 2022(1), 8929715.

AKCİĞER KANSERİNDE MİKRORNA'LAR: PATOGENEZ, BİYOBELİRTEÇLER VE TERAPÖTİK POTANSİYEL

Emre ÖZGÜR¹

Murat SERİLMEZ²

1. GİRİŞ

Akciğer kanseri, dünya genelinde kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenlerinden biri olarak küresel sağlık sistemleri üzerinde önemli bir yük oluşturmaktadır. Akciğer kanserinin ciddiyeti, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki istatistiklerle çarpıcı bir şekilde ortaya konmaktadır; 2022'de yaklaşık 236.740 yeni vaka ve 130.180 ölüm rapor edilmiş, 2023 tahminleri de bu yüksek insidans ve mortalite oranlarının devam ettiğini göstermektedir (Siegel et al., 2023). Bu yüksek mortalitenin temelinde, hastalığın sıklıkla ileri evrelerde teşhis edilmesi ve gelişmiş tedavi protokollerine karşı direnç mekanizmaları geliştirebilmesi yatmaktadır (Siegel vd., 2023). Histolojik olarak akciğer kanseri, vakaların %80'inden fazlasını oluşturan Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri (KHDAK) ve daha az yaygın olan ve oldukça agresif seyreden Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (KHAK) olmak üzere iki ana gruba ayrılır. KHDAK ise adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinom gibi alt tiplere sahiptir (Gyoba et al., 2016). Son yıllarda, gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel

¹ İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji ABD, ORCID: 0000-0002-4995-4759.

² İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji ABD, ORCID: 0000-0001-8502-2505.

düzenleyicileri olan mikroRNA'ların (miRNA'lar) keşfi, kanser biyolojisi anlayışımızı temelden dönüştürmüştür. Bu yazıda, miRNA'ların akciğer kanserinin gelişimi ve ilerlemesindeki karmaşık rollerini, bu moleküllerin tanısal, prognostik ve terapötik potansiyellerini akademik bir bakış açısıyla derinlemesine incelemektir.

Bu bölümde, moleküler onkoloji alanındaki araştırmacılar ve klinisyenler için güncel ve kapsamlı bir kaynak olmayı hedeflemektedir. miRNA'ların biyolojik rollerini ve kanser patogenezindeki yerini tam olarak anlayabilmek için öncelikle bu moleküllerin hassas biyogenez süreçlerinin ve temel işlev mekanizmalarının incelenmesi esastır.

Akciğer kanseri gelişiminde hem genetik hem de çevresel faktörler önemli rol oynamaktadır. Mevcut kanıtlar, akciğer kanserlerinin yaklaşık %8–14'ünün kalıtsal veya somatik genetik değişikliklerden kaynaklandığını göstermektedir (Kanwal et al., 2017). Genetik materyaldeki bu bozulmalar; hücre çoğalması, apoptoz ve DNA onarımı gibi temel hücresel süreçlerin aksamasına yol açarak tümör gelişimini kolaylaştırmaktadır (Borges et al., 2008). Örneğin, akciğer adenokarsinomlarının %10–30'u proto-onkogen KRAS mutasyonlarıyla ilişkilidir (Jancik et al., 2010). Benzer şekilde, EGFR mutasyonları insan akciğer karsinomlarının patogenezinde oldukça yaygın olarak rapor edilmektedir (Metro & Cirono, 2012). Tümör baskılayıcı gen TP53'ün ekspresyonundaki düzensizlik ise akciğer kanserlerinin yaklaşık %60–70'inde gözlenmektedir (Huang et al., 2018). Bunun yanı sıra BCL2 genindeki mutasyonlar veya ekspresyon değişikliklerinin de akciğer kanseri gelişimine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Gu et al., 2020).

Genetik etkenlere ek olarak, sigara kullanımı, hava kirliliği, radon gazı ve asbest maruziyeti gibi çevresel faktörler de akciğer kanseri riskini belirgin şekilde artırmaktadır (Yu et al.,

2021). Örneğin asbest maruziyetinin, miR-21 ekspresyonunu artırarak akciğer karsinogenezini desteklediği; bunun özellikle Pcd4 ve Reck gibi tümör baskılayıcı moleküllerin hedeflenmesi yoluyla gerçekleştiği bildirilmektedir (Hiraku et al., 2021). Aşağıdaki bölümde, hem genetik hem de çevresel faktörlerin miRNA düzenlenmesi aracılığıyla akciğer kanseri patogenezi üzerindeki etkilerini ortaya koyan çeşitli örnekler sunulmaktadır.

2. miRNA BİYOGENEZİ VE İŞLEV MEKANİZMALARI

İnsan genomunun yaklaşık %98'lik kısmı protein kodlamayan bölgelerden oluşur. Bu bölgelerden transkribe olan ancak protein ürününe çevrilmeyen RNA moleküllerine "kodlamayan RNA'lar" adı verilir. Bu RNA'lar, hücrel süreçlerin ince ayarında görev alan moleküler düzenleyiciler olarak işlev görür (Esteller et al., 2011). Başlıca kodlamayan RNA tipleri şunlardır:

- **Yapısal RNA'lar:** Ribozomal RNA (rRNA) ve transfer RNA (tRNA) gibi protein sentezinde doğrudan görev alan moleküller.
- **Uzun Kodlamayan RNA'lar (lncRNA):** 200 nükleotidden uzun olan ve gen ifadesinin epigenetik, transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel düzeyde düzenlenmesinde rol oynayan moleküller.
- **MikroRNA'lar (miRNA):** Yaklaşık 20-22 nükleotid uzunluğunda olan ve gen ifadesinin post-transkripsiyonel düzenlenmesinde anahtar rol oynayan küçük RNA'lar.
- **Diğer Küçük RNA'lar:** piRNA, siRNA gibi farklı regülasyon mekanizmalarında görev alan moleküller.

Bu kodlamayan RNA'lar arasında, özellikle miRNA'lar, kanser patogenezindeki merkezi rolleri nedeniyle son yıllarda yoğun ilgi görmektedir.

miRNA'ların gen düzenlemesindeki gücü, onların hassas ve karmaşık biyogenez sürecinden kaynaklanmaktadır. Bu sürecin detaylarının anlaşılması, miRNA'ların kanserde neden ve nasıl düzensizleştiğini kavramak için temel bir gerekliliktir. miRNA'ların biyogenezi, oldukça düzenlenmiş bir süreçtir ve temel olarak kanonik (klasik) yolak ve kanonik olmayan yol üzerinden gerçekleşir. Kanonik miRNA biyogenez yolağı, birkaç temel adımdan oluşmaktadır:

- **Transkripsiyon ve Çekirdek İçi İşlenme:** Süreç, miRNA genlerinin RNA Polimeraz II tarafından transkripsiyonu ile başlar ve pri-miRNA olarak adlandırılan birincil transkriptler üretilir. Bu pri-miRNA'lar, çekirdekte Drosha (bir RNaz III enzimi) ve onun kofaktörü olan Pasha/DGCR8'den oluşan Mikroişlemci Kompleksi tarafından tanınır ve işlenerek yaklaşık 70 nükleotid uzunluğunda, saç tokası (hairpin) yapısında pre-miRNA molekülleri oluşturulur (Das & Rao, 2022).
- **Sitoplazmaya Taşınma:** Oluşturulan pre-miRNA'lar, Ran-GTP'ye bağımlı bir taşıyıcı protein olan Exportin-5 aracılığıyla nükleer porlardan sitoplazmaya aktif olarak taşınır (Das & Rao, 2022).
- **Sitoplazmik İşleme ve Olgunlaşma:** Sitoplazmada, pre-miRNA molekülü başka bir RNaz III enzimi olan Dicer tarafından tanınır ve kesilir. Bu kesim sonucunda, yaklaşık 22 nükleotid uzunluğunda olgun bir miRNA:miRNA* dubleksi (çift zincirli yapı) meydana gelir (Das & Rao, 2022).

- **RISC Kompleksine Yükleme:** Bu dubleks yapı, Argonaute (AGO) proteinini içeren RNA ile indüklenen susturma kompleksine (RISC) yüklenir. Kompleks, daha sonra bu dubleksi çözerek olgun miRNA'yı (kılavuz zincir) tutarken, yolcu (passenger) zincir olarak adlandırılan diğer zinciri genellikle bozunmaya uğratar (Das & Rao, 2022)..

İşlevsel hale gelen olgun miRNA, RISC kompleksi aracılığıyla hedef mRNA'ların genellikle 3' çevrilmeyen bölgesinde (3'-UTR) bulunan ve "seed" (tohum) dizisi olarak bilinen tamamlayıcı dizilere bağlanır. Bu bağlanma, mRNA translasyonunun inhibisyonuna veya doğrudan mRNA'nın yıkımına yol açarak hedef genin ekspresyonunu post-transkripsiyonel düzeyde susturur (Jonas & Izaurralde, 2015).

Bu hassas biyogenez sürecindeki herhangi bir genetik veya epigenetik aksaklık, olgun miRNA seviyelerinde düzensizliklere yol açarak kanser gibi patolojik durumlara zemin hazırlayabilir.

3. AKCİĞER KANSERİNDE MİRNA DÜZENSİZLİĞİNİN MEKANİZMALARI

Sağlıklı hücrelerde sıkı bir şekilde kontrol edilen miRNA ekspresyon profilleri, akciğer kanserinde önemli ölçüde değişmektedir. Bu değişimin altında yatan moleküler mekanizmaları anlamak, hem kanserin başlangıcını aydınlatmak hem de potansiyel terapötik hedefler belirlemek için kritik bir öneme sahiptir. Bu mekanizmaların aydınlatılması, miRNA ekspresyon profillerini potansiyel olarak 'normalleştirebilecek' terapötik müdahaleler için mantıksal bir zemin oluşturmaktadır. Akciğer kanserinde miRNA ekspresyonunun bozulmasına yol açan ana faktörler aşağıda detaylandırılmıştır.

3.1. Genomik Anormallikler

miRNA genlerinin yaklaşık %25'i, kromozomların kırılğan bölgelerinde, heterozigotluk kaybı (LOH) yaşanan veya amplifikasyona uğrayan alanlarda yer almaktadır. Bu genomik kararsızlıklar, ilgili miRNA genlerinin kaybına veya aşırı ekspresyonuna yol açarak hücresel dengeyi bozabilir (Calin et al., 2004).

3.2. Epigenetik Modifikasyonlar

DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları gibi epigenetik mekanizmalar, özellikle tümör baskılayıcı miRNA'ların ifadesini susturmada önemli rol oynar. Örneğin, akciğer kanserinde miR-34b/c, miR-9 ve miR-193a gibi miRNA'ların promotör bölgelerindeki hipermetilasyon, bu miRNA'ların susturulmasına ve hedefledikleri onkogenlerin aktivitesinin artmasına neden olur (Heller et al., 2012; Wang et al., 2011).

3.3. Polimorfizmler

miRNA gen dizilerinde veya hedef mRNA'ların 3'-UTR bölgelerinde meydana gelen tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), miRNA-mRNA bağlanma etkinliğini değiştirebilir. KRAS onkogeninin 3'-UTR bölgesindeki bir SNP'nin, tümör baskılayıcı let-7 miRNA'sının bağlanmasını zayıflattığı ve böylece akciğer kanseri riskini artırdığı gösterilmiştir (Chin et al., 2008).

3.4. Transkripsiyonel Düzenleme Hataları

miRNA genlerinin transkripsiyonu, çeşitli transkripsiyon faktörleri tarafından düzenlenir. Myc gibi onkogenik transkripsiyon faktörlerinin aşırı aktivasyonu, miR-17-92 kümesi gibi onkogenik miRNA'ların (onko-miRNA) ekspresyonunu artırarak tümör gelişimini teşvik eder (O' donnell et al., 2005).

3.5. Anormal Olgunlaşma Süreçleri

miRNA biyogenez mekanizmasında yer alan Drosha ve Dicer gibi temel proteinlerin fonksiyon bozuklukları, pri-miRNA'ların olgun miRNA'lara verimli bir şekilde işlenmesini engelleyebilir. Bu durum, genel bir miRNA ekspresyon azalmasına yol açarak kanser patogeneze katkıda bulunur.

Bu mekanizmalarla ortaya çıkan miRNA düzensizlikleri, kanserin temel biyolojik yeteneklerini doğrudan etkileyerek patogenezin ilerlemesine ve hastalığın agresif bir fenotip kazanmasına katkıda bulunur (Trabucchi et al, 2009).

4. miRNA'LARIN AKCİĞER KANSERİ PATOGENEZİNDEKİ ÇOK YÖNLÜ ROLLERİ

Düzensiz miRNA ekspresyonu, akciğer kanserinin gelişim ve ilerlemesinde merkezi bir rol oynamaktadır. miRNA'lar, "kanserin ayırt edici özellikleri" olarak bilinen temel hücresel süreçleri modüle ederek ya tümör baskılayıcı ya da onkogenik (oncomiR) işlevler görürler (Sussanti et al., 2023). Bu etkileşimlerin moleküler düzeyde haritalandırılması, kanserin ilerlemesini durdurmak için hassas müdahale noktaları belirlememizi sağlar. Bu bölümde, miRNA'ların bu süreçler üzerindeki etkileri incelenecektir.

4.1. Proliferasyon ve Hücre Döngüsü Kontrolü

Kontrolsüz proliferasyon, kanserin en temel özelliğidir. Tümör baskılayıcı miR-218-5p ve miR-134, önemli bir büyüme faktörü reseptörü olan EGFR'yi doğrudan hedefleyerek akciğer kanseri hücrelerinin proliferasyonunu inhibe eder (Zhu et al., 2016). Benzer şekilde, miR-15a/16 kümesi ve miR-449a gibi miRNA'lar, sırasıyla Siklin D1/E1 ve E2F3 gibi hücre döngüsü düzenleyicilerini hedef alarak hücre döngüsünü durdurur ve tümör büyümesini baskılar (Bandi et al., 2009; Ren et al., 2014).

Buna karşılık, miR-3613-5p ve miR-21-5p gibi onko-miRNA'lar proliferasyonu ve hücre çoğalmasını teşvik ederler (He et al., 2020; Tang et al., 2021).

4.2. İnvazyon, Metastaz ve Epitelyal-Mezenkimal Geçiş (EMT)

Metastaz, kansere bağlı ölümlerin ana nedenidir ve EMT süreci bu olayın kritik bir başlangıç adımıdır. miR-200 ailesi, EMT'nin ana düzenleyicileri olan ZEB1 ve ZEB2 transkripsiyon faktörlerini doğrudan hedefleyerek bu süreci baskılar ve invazyonu engeller (Chen et al., 2014). miR-148a ve miR-29b de benzer şekilde metastazı baskılayıcı roller üstlenir (Chen et al., 2013). Tersine, miR-135b, Hippo sinyal yolağını hedef alarak, miR-21 ise PTEN tümör baskılayıcısını susturarak hücre göçünü, invazyonu ve metastazı agresif bir şekilde teşvik eder (Lin et al., 2013; Liu et al., 2013).

4.3. Anjiyogenez (Yeni Damar Oluşumu)

Tümörlerin büyümesi ve yayılması, besin ve oksijen sağlamak için yeni kan damarlarının oluşumuna bağlıdır. miR-200b, miR-126 ve miR-128 gibi miRNA'lar, anjiyogenezin ana tetikleyicisi olan VEGF ve reseptörlerini hedefleyerek yeni damar oluşumunu engeller (Choi et al., 2011; Liu et al., 2009). Buna karşılık, hipoksik koşullar altında kanser hücrelerinden salınan eksozomlar içindeki miR-23a, endotel hücrelerine transfer edilerek anjiyogenez uyarır (Hsu et al., 2017).

4.4. Apoptozdan Kaçış

Kanser hücreleri, programlanmış hücre ölümü olan apoptozdan kaçarak hayatta kalma avantajı elde eder. miR-608 (TFAP4'ü hedefleyerek), miR-15a (BCL2L2'yi hedefleyerek) ve miR-7 (BCL2'yi hedefleyerek) gibi miRNA'lar, anti-apoptotik proteinleri baskılayarak hücre ölümünü tetikler ve tümör

baskılayıcı olarak işlev görür (Wang et al., 2019; Yang et al., 2015; Xiong et al., 2011).

4.5. Hücresel Metabolizmanın Yeniden Programlanması (Warburg Etkisi)

Kanser hücreleri, ağırlıklı olarak glikoliz kullanarak metabolizmalarını yeniden programlar (Warburg etkisi). miR-144 ve miR-199a-5p, glikoz taşıyıcısı GLUT1'i hedefleyerek glikoz alımını ve laktat üretimini azaltır, böylece Warburg etkisini tersine çevirir. Buna karşılık, miR-31-5p, FIH proteinini baskılayarak HIF-1 fonksiyonunu artırır ve glikolizi teşvik ederek Warburg etkisini güçlendirir (Liu et al. 2016; Xu et al, 2022, Zhu et al., 2019).

4.6. İmmün Sistemden Kaçış

Tümörler, bağışıklık sisteminin denetiminden kaçabilir. miR-34a ve miR-138-5p, immün kontrol noktası molekülü olan PD-L1'i doğrudan hedefleyerek T hücrelerinin tümör hücrelerini yok etmesini kolaylaştırır. Tersine, akciğer tümörlerinden salınan mikro-veziküllerle T-regülatör (Treg) hücrelere taşınan miR-214, bu hücrelerin genişlemesini sağlayarak immün baskılamayı teşvik eder ve tümörün bağışıklık sisteminden kaçmasına yardımcı olur (Cortez et al., 2016; Song et al., 2020; Yin et al. 2014).

miRNA'lar sadece tümör hücrelerinin içsel özelliklerini değil, aynı zamanda tümörün çevresindeki hücrelerle olan karmaşık etkileşimini de düzenleyerek kanser patogenezinin her aşamasında kritik roller üstlenirler.

5. TÜMÖR MİKROÇEVRESİNDE (TMÇ) MİRNA'LARIN ROLÜ

Akciğer kanserinin gelişimi, sadece kanser hücrelerinin otonom özelliklerine değil, aynı zamanda onları çevreleyen ve

destekleyen karmaşık bir ekosistem olan tümör mikroçevresine (TMÇ) de derinden bağlıdır. miRNA'lar, kanser hücreleri ile TMÇ'nin stromal bileşenleri (kanserle ilişkili fibroblastlar, immün hücreler vb.) arasındaki bu kritik iletişimi düzenleyen önemli araçlar olarak ortaya çıkmıştır (Kununti et al., 2016). Bu karşılıklı etkileşimin anlaşılması, tümörün büyümesini destekleyen bu simbiyotik ilişkiyi bozmaya yönelik yeni terapötik stratejiler geliştirmek için elzemdir (Chatterjee et al., 2025).

5.1. Kanserle İlişkili Fibroblastlar (CAF'lar)

CAF'lar, tümör büyümesini, anjiyogenezi ve metastazı destekleyen en önemli stromal hücre tiplerinden biridir. CAF'larda ekspresyonu baskılanmış olan miR-101, hedefi olan kemokin CXCL12'nin salgılanmasını artırarak kanser hücrelerinin proliferasyonunu ve metastazını teşvik eder (Zhang et al., 2015). Benzer şekilde, CAF'larda düşük seviyelerde bulunan miR-1, hedefi olan SDF-1'in ekspresyonunun artmasına yol açar, bu da kanser hücrelerinin proliferasyonunu ve kemoterapiye karşı direncini artırır (Li et al., 2016).

5.2. Tümörle İlişkili Makrofajlar (TAM'lar)

TAM'lar, genellikle immün baskılayıcı M2 fenotipine polarize olarak tümör gelişimini destekler. TAM'larda yüksek seviyelerde eksprese edilen miR-320a, hedefi olan STAT4'ü baskılayarak, miR-130a ise hedefi olan PPAR γ 'yı baskılayarak makrofajları M2 fenotipine yönlendirir (Fortunato et al., 2019; Lin et al., 2015). Bu immünosupresif makrofajlar, kanser hücrelerinin proliferasyonunu, invazyonunu ve anjiyogenezi destekleyerek tümör progresyonuna katkıda bulunur.

Bu moleküler ve hücrel etkileşimlerin aydınlatılması, miRNA'ları akciğer kanserinin klinik yönetiminde hem biyobelirteç hem de terapötik hedef olarak değerli araçlar haline getirme potansiyelini doğurmaktadır.

6. AKCİĞER KANSERİNDE MİRNA'LARIN KLİNİK ÖNEMİ

miRNA'ların patogenezdaki temel rollerinin anlaşılması, bu moleküllerin akciğer kanserinin teşhisi, prognoz tahmini ve tedavisi için nasıl kullanılabileceğine dair önemli ipuçları sunmaktadır. Kararlı yapıları ve kan, plazma gibi vücut sıvılarında tespit edilebilmeleri, onları non-invaziv biyobelirteçler olarak oldukça cazip kılmaktadır. Bu bölümde, miRNA'ların klinik uygulamadaki potansiyel değeri ve bu alanda karşılaşılan zorluklar ele alınacaktır.

6.1. Tanısal Biyobelirteçler

Dolaşımdaki miRNA'lar (ci-miRNA), akciğer kanserinin, özellikle de erken evrelerde, non-invaziv tespiti için umut verici bir araç olarak öne çıkmaktadır. Ci-miRNA'lar, kolay ulaşılabilirlik (minimal invaziv örnekleme), türler arasında yüksek dizi korunumu ve qRT-PCR, mikrodizi gibi hassas tespit yöntemlerine uygunluk gibi nedenlerle mükemmel bir biyobelirteç profili sergiler (He et al., 2015).

- **Alt Tip Ayrımı:** Farklı akciğer kanseri alt tipleri, kendilerine özgü miRNA profilleri sergileyebilir. Örneğin, hsa-miR-205 ifadesinin skuamöz hücreli karsinom için spesifik olduğu (Lebonony et al., 2009), miR-124a'nın ise adenokarsinom ile sınırlı olduğu gösterilmiştir (Lujambio et al., 2007).
- **Erken Teşhis:** Sağlıklı bireylere kıyasla erken evre KHDAK hastalarının serumunda miR-492 ve miR-590-3p seviyelerinin arttığı, miR-631 seviyesinin ise azaldığı gösterilmiştir. Bu üç miRNA'dan oluşan bir panel, erken teşhis için potansiyel bir biyobelirteç olarak önerilmiştir (Duan et al., 2021).

6.2. Prognostik Biyobelirteçler

Belirli miRNA'ların ekspresyon seviyeleri, hastanın sağkalım oranı ve hastalığın seyri hakkında önemli bilgiler sunabilir. Düşük let-7 ailesi ekspresyonu, cerrahi olarak tedavi edilen akciğer kanseri hastalarında daha kısa postoperatif sağkalım ile ilişkilendirilmiştir (Takamizawa et al., 2004). Buna karşılık, yüksek miR-155 ve miR-21 ekspresyonu ise KHDAK hastalarında olumsuz prognoz ve daha düşük genel sağkalım ile bağlantılı bulunmuştur (Yang et al., 2013).

6.3. Tedavi Yanıtı ve İlaç Direnci

miRNA'lar, kanser hücrelerinin kemoterapi, radyoterapi ve hedefe yönelik tedavilere verdiği yanıtı önemli ölçüde etkileyebilir. Örneğin, onko-miRNA olan miR-155'in aşırı ekspresyonu, sisplatin gibi platin bazlı kemoterapilere karşı direnç gelişimine katkıda bulunurken (Lu et al., 2018), miR-18a'nın ekspresyonu hücrelerin radyoterapiye duyarlılığını artırmaktadır (Shen et al. 2015). Benzer şekilde, miR-483-3p'nin yeniden ekspresyonu, gefitinibe dirençli hücreleri tekrar tedaviye duyarlı hale getirebilmektedir (Yue et al. 2018).

miRNA'ların tedavi yanıtını bu denli güçlü bir şekilde modüle etme yeteneği, onları doğrudan terapötik hedef haline getiren yeni ve yenilikçi stratejilerin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır.

7. miRNA TEMELLİ TERAPÖTİK STRATEJİLER VE DAĞITIM SİSTEMLERİ

miRNA'ların kanser patogenezindeki merkezi rolü, onları doğrudan hedef alan yenilikçi tedavi yaklaşımları için oldukça cazip kılmaktadır. Bu yaklaşımlar temel olarak, kanser hücrelerinde seviyesi azalmış tümör baskılayıcı miRNA'ları geri kazandırmayı (replasman terapisi) veya aşırı eksprese edilen

onko-miRNA'ları susturmayı (inhibisyon terapisi) amaçlamaktadır. Ancak, bu terapötiklerin hedefe güvenli ve etkin bir şekilde ulaştırılması, önemli bir zorluk teşkil etmektedir.

7.1. Terapötik Yaklaşımlar

miRNA Mimikleri (Replasman Terapisi), fonksiyonunu yitirmiş tümör baskılayıcı miRNA'ların etkisini taklit etmek üzere tasarlanmış sentetik, çift zincirli RNA moleküllerinin (mimikler) hücrelere verilmesine dayanır. Faz I klinik çalışmalarına giren ilk miRNA mimiği olan MRX34, lipozomal bir formülasyon içinde paketlenmiş sentetik bir miR-34a mimiğidir (Beg et al., 2017). TargomiR ise miR-16 mimiğini taşıyan ve kanser hücrelerini tanımak için EGFR antikoru ile hedeflendirilmiş EDV™ (EnGeneIC Delivery Vehicle) bazlı bir nano hücredir ve ilerlemiş KHDAK hastalarında klinik olarak araştırılmıştır (van Zandwijk et al., 2017)

Anti-miRNA (İnhibisyon Terapisi) yaklaşımı, kanser hücrelerinde aşırı eksprese edilen onko-miRNA'ları engellemek için tasarlanmış, kimyasal olarak modifiye edilmiş, tek zincirli antisens oligonükleotidlerin (antagomirler veya anti-miR'ler) kullanılmasını içerir (Dhuri et al., 2022). Bu moleküller, hedef onko-miRNA'ya yüksek afinite ile bağlanarak onun fonksiyonunu bloke eder. Bir antisens morfolino oligonükleotidi (AMO) olan Anti-miR-421'in, KHDAK hücrelerinde paklitaksel kemoterapisine karşı duyarlılığı artırdığı gösterilmiştir (Duan et al., 2021).

7.2. Dağıtım Sistemleri

Kapsülsüz miRNA molekülleri, nükleazlar tarafından hızla yıkıma uğrar ve hücre zarlarından verimli bir şekilde geçemez (Sun et al., 2022). Bu nedenle, stabilitelerini artırmak ve hedefe özgü dağıtım sağlamak için çeşitli taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir:

- **Viral Vektörler:** Yüksek transfeksiyon verimliliği sunarlar ancak immünojenisite ve insertional mutagenез gibi güvenlik endişeleri taşırlar (Toma et al., 2022).
- **Lipid Bazlı Nanopartiküller (LNP'ler):** miRNA'ları kapsülleyerek onları yıkımdan koruyan ve hücre içine alımı kolaylaştıran lipozom benzeri yapılardır (Lee et al., 2019). MRX34, bu teknolojinin bir örneğidir (Beg et al., 2017).
- **Polimerik Nanopartiküller:** Biyo-uyumlu polimerlerden yapılan ve miRNA'ları koruyarak kontrollü salım sağlayan nanopartiküllerdir (Lee et al., 2019).
- **Eksozomlar ve Hücre Türevi Veziküller:** Vücudun doğal taşıma mekanizmaları olan eksozomlar, düşük immünojenisite ve doğal hedefleme yetenekleri nedeniyle büyük ilgi görmektedir. TargomiR'lerde kullanılan EDV™ teknolojisi bu yaklaşıma bir örnektir (van Zandwijk et al., 2017).

Bu umut verici stratejilerin laboratuvarından kliniğe taşınması sürecinde karşılaşılan zorluklar ve bu alandaki güncel klinik çalışmalar, miRNA temelli tedavilerin geleceğini şekillendirecektir.

8. KLİNİK ÇALIŞMALAR VE GELECEK PERSPEKTİFLERİ

miRNA temelli yaklaşımların teorik potansiyelinin, ancak titiz klinik çalışmalarla gerçeğe dönüştürülebileceği açıktır. Bu bölümde, akciğer kanserinde miRNA'ları içeren klinik çalışmaların mevcut durumu özetleyerek, bu alandaki temel zorluklar ve gelecekteki araştırma yönelimleri tartışılacaktır.

8.1. Klinik Çalışmaların Durumu

miRNA temelli tedavilerin klinik yolculuğu, umut verici başlangıçlara rağmen önemli zorluklarla karşılaşmıştır. En bilinen örnek, miR-34a mimiği içeren lipozomal bir formülasyon olan MRX34'ün Faz I klinik çalışmasıdır (Beg et al., 2017). Bu çalışma, ileri evre solid tümörleri olan hastalarda bazı antitumor aktiviteler göstermiş, ancak ciddi immün sistemle ilişkili yan etkiler nedeniyle 2016 yılında sonlandırılmıştır (Beg et al., 2017). Bu durum, miRNA replasman terapilerinin potansiyel toksisiteleri ve uygun hasta seçimi gerekliliği konusunda önemli bilgiler sağlamıştır.

Bununla birlikte, miRNA'lar klinik araştırmalarda farklı amaçlarla incelenmeye devam etmektedir. Örneğin, NCT04629079 numaralı çalışma, hipoksi ile ilişkili eksozomal miRNA'ları akciğer kanserinin erken teşhisinde bir araç olarak değerlendirirken; NCT05311709 numaralı çalışma, spesifik bir tedaviye (Sotorasib) yanıtı öngörmede miRNA'ların potansiyelini araştırmaktadır. Bu çalışmalar, miRNA'ların sadece doğrudan terapötik ajan olarak değil, aynı zamanda tanısal ve tedaviye yardımcı biyobelirteçler olarak da klinik potansiyellerini göstermektedir.

8.2. Zorluklar ve Gelecek Yönelimleri

miRNA'ların standart klinik uygulamaya geçişinin önünde aşılması gereken önemli engeller bulunmaktadır. Gelecekteki araştırmaların bu alanlara odaklanması beklenmektedir:

- **Hedef Dışı Etkiler:** Tek bir miRNA'nın yüzlerce farklı mRNA'yı hedefleyebilmesi, miRNA mimiklerinin veya anti-miRNA'ların istenmeyen ve öngörülemeyen yan etkilere yol açma riskini artırmaktadır. Bu "off-target" etkilerin en aza indirilmesi kritik bir zorluktur.

- **Etkin Dağıtım:** miRNA terapötiklerinin tümör dokusuna spesifik, güvenli ve verimli bir şekilde ulaştırılması en büyük engellerden biridir. Dolaşımda stabiliteyi sağlayan ve sadece kanser hücrelerini hedef alan akıllı dağıtım sistemlerinin geliştirilmesi, gelecekteki başarının anahtarıdır.
- **Standardizasyon Eksikliği:** Farklı çalışmalar arasında örnek toplama, saklama ve analiz yöntemlerindeki farklılıklar, sonuçların tutarsız ve çelişkili olmasına yol açabilmektedir. Biyobelirteç olarak güvenilirliği sağlamak için standartlaştırılmış protokollere acil ihtiyaç duyulmaktadır.
- **Büyük Ölçekli Doğrulama:** Laboratuvarı veya küçük hasta gruplarında umut vaat eden miRNA biyobelirteç panellerinin, klinik kullanıma girmeden önce geniş ve çeşitli hasta kohortlarında titizlikle doğrulanması gerekmektedir.

9. SONUÇ

Akciğer kanseri, moleküler düzeyde oldukça heterojen ve karmaşık bir hastalıktır. Burada ortaya konulduğu üzere, mikroRNA'lar bu hastalığın patogenezinin hemen her aşamasında kritik düzenleyici roller oynamaktadır. Hem tümör baskılayıcı hem de onkogenik işlevler görerek proliferasyon, metastaz, anjiyogenez, hücrel metabolizma ve immün sistemden kaçış gibi kanserin temel özelliklerini yönetirler. Ayrıca, tümör hücreleri ile mikroçevre arasındaki iletişimi modüle ederek hastalığın ilerlemesine ve tedaviye direncine önemli ölçüde katkıda bulunurlar.

Bu moleküllerin patogenezdaki merkezi rolleri, onları klinik uygulamalar için son derece değerli kılmaktadır.

Dolaşımdaki miRNA'lar, akciğer kanserinin erken teşhisi için non-invaziv biyobelirteçler, prognoz tahmini ve tedavi yanıtını öngörmek için potansiyel araçlar olarak büyük bir umut vaat etmektedir. Buna ek olarak, miRNA mimikleri ve anti-miRNA'lar gibi terapötik stratejiler, gen ekspresyonunu hedefe yönelik olarak modüle ederek kişiselleştirilmiş tedaviler için yeni bir çıkır açma potansiyeli taşımaktadır.

Ancak, bu potansiyelin klinik gerçeğe dönüşmesinin önünde önemli engeller bulunmaktadır. Tek bir miRNA'nın birden fazla hedefi olması nedeniyle ortaya çıkabilecek hedef dışı etkiler, terapötik ajanların tümör dokusuna spesifik ve güvenli bir şekilde ulaştırılmasındaki zorluklar ve biyobelirteç analizleri için standardizasyon eksikliği gibi sorunlar aşılmalıdır. Bu sorunların çözülmesine yönelik devam eden yoğun araştırmaların, gelecekte miRNA temelli tanı ve tedavi yaklaşımlarını akciğer kanseriyle mücadelede standart klinik uygulamaların vazgeçilmez bir parçası haline getireceğine inanılmaktadır.

KAYNAKLAR

- Bandi, N., Zbinden, S., Gugger, M., Arnold, M., Kocher, V., Hasan, L., Kappeler, A., Brunner, T., & Vassella, E. (2009). miR-15a and miR-16 are implicated in cell cycle regulation in a Rb-dependent manner and are frequently deleted or down-regulated in non-small cell lung cancer. *Cancer research*, 69(13), 5553–5559.
- Beg, M. S., Brenner, A. J., Sachdev, J., Borad, M., Kang, Y. K., Stoudemire, J., Smith, S., Bader, A. G., Kim, S., & Hong, D. S. (2017). Phase I study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, administered twice weekly in patients with advanced solid tumors. *Investigational new drugs*, 35(2), 180–188.
- Calin, G. A., Sevignani, C., Dumitru, C. D., Hyslop, T., Noch, E., Yendamuri, S., Shimizu, M., Rattan, S., Bullrich, F., Negrini, M., & Croce, C. M. (2004). Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(9), 2999–3004.
- Chatterjee, M., Nag, S., Gupta, S., Mukherjee, T., Shankar, P., Parashar, D., Maitra, A., & Das, K. (2025). MicroRNAs in lung cancer: their role in tumor progression, biomarkers, diagnostic, prognostic, and therapeutic relevance. *Discover Oncology*, 16(293).
- Chen, L., Gibbons, D. L., Goswami, S., Cortez, M. A., Ahn, Y. H., Byers, L. A., Zhang, X., Yi, X., Dwyer, D., Lin, W., Diao, L., Wang, J., Roybal, J., Patel, M., Ungewiss, C., Peng, D., Antonia, S., Mediavilla-Varela, M., Robertson, G., Suraokar, M., ... Qin, F. X. (2014). Metastasis is regulated via microRNA-200/ZEB1 axis control of

tumour cell PD-L1 expression and intratumoral immunosuppression. *Nature communications*, 5, 5241.

- Chen, Y., Min, L., Zhang, X., Hu, S., Wang, B., Liu, W., Wang, R., Gu, X., Shen, W., Lv, H., Zou, J., Chen, Y., Xu, X., & Chen, L. (2013). Decreased miRNA-148a is associated with lymph node metastasis and poor clinical outcomes and functions as a suppressor of tumor metastasis in non-small cell lung cancer. *Oncology reports*, 30(4), 1832–1840.
- Chin, L. J., Ratner, E., Leng, S., Zhai, R., Nallur, S., Babar, I., Muller, R. U., Straka, E., Su, L., Burki, E. A., Crowell, R. E., Patel, R., Kulkarni, T., Homer, R., Zeltermann, D., Kidd, K. K., Zhu, Y., Christiani, D. C., Belinsky, S. A., Slack, F. J., ... Weidhaas, J. B. (2008). A SNP in a let-7 microRNA complementary site in the KRAS 3' untranslated region increases non-small cell lung cancer risk. *Cancer research*, 68(20), 8535–8540.
- Cortez, M. A., Ivan, C., Valdecanas, D., Wang, X., Peltier, H. J., Ye, Y., Araujo, L., Carbone, D. P., Shilo, K., Giri, D. K., Kelnar, K., Martin, D., Komaki, R., Gomez, D. R., Krishnan, S., Calin, G. A., Bader, A. G., & Welsh, J. W. (2015). PDL1 Regulation by p53 via miR-34. *Journal of the National Cancer Institute*, 108(1), djv303.
- Das, K., & Rao, L. V. M. (2022). The Role of microRNAs in Inflammation. *International journal of molecular sciences*, 23(24), 15479.
- Duan, F. G., Wang, M. F., Cao, Y. B., Dan Li, Li, R. Z., Fan, X. X., Khan, I., Lai, H. L., Zhang, Y. Z., Hsiao, W. W., Yao, X. J., Wu, Q. B., Liu, L., Tang, Y. J., & Leung, E. L. (2019). MicroRNA-421 confers paclitaxel resistance by binding to the KEAP1 3'UTR and predicts poor survival

in non-small cell lung cancer. *Cell death & disease*, 10(11), 821.

- Fortunato, O., Borzi, C., Milione, M., Centonze, G., Conte, D., Boeri, M., Verri, C., Moro, M., Facchinetti, F., Andriani, F., Roz, L., Caleca, L., Huber, V., Cova, A., Camisaschi, C., Castelli, C., Cancila, V., Tripodo, C., Pastorino, U., & Sozzi, G. (2019). Circulating mir-320a promotes immunosuppressive macrophages M2 phenotype associated with lung cancer risk. *International journal of cancer*, 144(11), 2746–2761.
- Gu, R. H., Tan, B., Ma, J., Shen, W. Y., Zuo, Y. S., & Shi, L. (2020). Diagnostic value of the combined detection of CEA, NSE and IL-18 for lung cancer and their relationship with apoptosis gene Bcl-2. *Journal of biological regulators and homeostatic agents*, 34(5), 1637–1646.
- He, T., Shen, H., Wang, S., Wang, Y., He, Z., Zhu, L., Du, X., Wang, D., Li, J., Zhong, S., Huang, W., & Yang, H. (2020). MicroRNA-3613-5p Promotes Lung Adenocarcinoma Cell Proliferation through a RELA and AKT/MAPK Positive Feedback Loop. *Molecular therapy. Nucleic acids*, 22, 572–583.
- Heller, G., Weinzierl, M., Noll, C., Babinsky, V., Ziegler, B., Altenberger, C., Minichsdorfer, C., Lang, G., Döme, B., End-Pfützenreuter, A., Arns, B. M., Grin, Y., Klepetko, W., Zielinski, C. C., & Zöchbauer-Müller, S. (2012). Genome-wide miRNA expression profiling identifies miR-9-3 and miR-193a as targets for DNA methylation in non-small cell lung cancers. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 18(6), 1619–1629.

- Hiraku, Y., Watanabe, J., Kaneko, A., Ichinose, T., & Murata, M. (2021). MicroRNA expression in lung tissues of asbestos-exposed mice: Upregulation of miR-21 and downregulation of tumor suppressor genes Pcd4 and Reck. *Journal of occupational health*, 63(1), e12282.
- Huang, C., Yang, M., Deng, J., Li, P., Su, W., & Jiang, R. (2018). Upregulation and activation of p53 by erastin-induced reactive oxygen species contribute to cytotoxic and cytostatic effects in A549 lung cancer cells. *Oncology reports*, 40(4), 2363–2370.
- Jancík, S., Drábek, J., Radzioch, D., & Hajdúch, M. (2010). Clinical relevance of KRAS in human cancers. *Journal of biomedicine & biotechnology*, 2010, 150960.
- Kanwal, M., Ding, X. J., & Cao, Y. (2017). Familial risk for lung cancer. *Oncology letters*, 13(2), 535–542.
- Borges HL, Linden R, Wang JY. DNA hasarı kaynaklı hücre ölümü: merkezi sinir sisteminden alınan dersler. *Cell Res*. 2008;18(1):17–26.
- Kuninty, P. R., Schnittert, J., Storm, G., & Prakash, J. (2016). MicroRNA Targeting to Modulate Tumor Microenvironment. *Frontiers in oncology*, 6, 3.
- Lebanony, D., Benjamin, H., Gilad, S., Ezagouri, M., Dov, A., Ashkenazi, K., Gefen, N., Izraeli, S., Rechavi, G., Pass, H., Nonaka, D., Li, J., Spector, Y., Rosenfeld, N., Chajut, A., Cohen, D., Aharonov, R., & Mansukhani, M. (2009). Diagnostic assay based on hsa-miR-205 expression distinguishes squamous from nonsquamous non-small-cell lung carcinoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 27(12), 2030–2037.

- Lee, S. W. L., Paoletti, C., Campisi, M., Osaki, T., Adriani, G., Kamm, R. D., Mattu, C., & Chiono, V. (2019). MicroRNA delivery through nanoparticles. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 313, 80–95.
- Li, J., Guan, J., Long, X., Wang, Y., & Xiang, X. (2016). mir-1-mediated paracrine effect of cancer-associated fibroblasts on lung cancer cell proliferation and chemoresistance. *Oncology reports*, 35(6), 3523–3531
- Lin, C. W., Chang, Y. L., Chang, Y. C., Lin, J. C., Chen, C. C., Pan, S. H., Wu, C. T., Chen, H. Y., Yang, S. C., Hong, T. M., & Yang, P. C. (2013). MicroRNA-135b promotes lung cancer metastasis by regulating multiple targets in the Hippo pathway and LZTS1. *Nature communications*, 4, 1877.
- Lin, L., Lin, H., Wang, L., Wang, B., Hao, X., & Shi, Y. (2015). miR-130a regulates macrophage polarization and is associated with non-small cell lung cancer. *Oncology reports*, 34(6), 3088–3096.
- Liu, B., Peng, X. C., Zheng, X. L., Wang, J., & Qin, Y. W. (2009). MiR-126 restoration down-regulate VEGF and inhibit the growth of lung cancer cell lines in vitro and in vivo. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)*, 66(2), 169–175.
- Liu, M., Gao, J., Huang, Q., Jin, Y., & Wei, Z. (2016). Downregulating microRNA-144 mediates a metabolic shift in lung cancer cells by regulating GLUT1 expression. *Oncology letters*, 11(6), 3772–3776.
- Liu, Z. L., Wang, H., Liu, J., & Wang, Z. X. (2013). MicroRNA-21 (miR-21) expression promotes growth, metastasis, and chemo- or radioresistance in non-small cell lung cancer

cells by targeting PTEN. *Molecular and cellular biochemistry*, 372(1-2), 35–45.

Lu, J., Zhan, Y., Feng, J., Luo, J., & Fan, S. (2018). MicroRNAs associated with therapy of non-small cell lung cancer. *International journal of biological sciences*, 14(4), 390–397.

Lujambio, A., Ropero, S., Ballestar, E., Fraga, M. F., Cerrato, C., Setién, F., Casado, S., Suarez-Gauthier, A., Sanchez-Céspedes, M., Git, A., Spiteri, I., Das, P. P., Caldas, C., Miska, E., & Esteller, M. (2007). Genetic unmasking of an epigenetically silenced microRNA in human cancer cells. *Cancer research*, 67(4), 1424–1429.

Metro, G., & Crinò, L. (2012). Advances on EGFR mutation for lung cancer. *Translational lung cancer research*, 1(1), 5–13.

O'Donnell, K. A., Wentzel, E. A., Zeller, K. I., Dang, C. V., & Mendell, J. T. (2005). c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature*, 435(7043), 839–843.

Ren, X. S., Yin, M. H., Zhang, X., Wang, Z., Feng, S. P., Wang, G. X., Luo, Y. J., Liang, P. Z., Yang, X. Q., He, J. X., & Zhang, B. L. (2014). Tumor-suppressive microRNA-449a induces growth arrest and senescence by targeting E2F3 in human lung cancer cells. *Cancer letters*, 344(2), 195–203.

Shen, Z., Wu, X., Wang, Z., Li, B., & Zhu, X. (2015). Effect of miR-18a overexpression on the radiosensitivity of non-small cell lung cancer. *International journal of clinical and experimental pathology*, 8(1), 643–648.

Song, N., Li, P., Song, P., Li, Y., Zhou, S., Su, Q., Li, X., Yu, Y., Li, P., Feng, M., Zhang, M., & Lin, W. (2020). MicroRNA-138-5p Suppresses Non-small Cell Lung

Cancer Cells by Targeting PD-L1/PD-1 to Regulate Tumor Microenvironment. *Frontiers in cell and developmental biology*, 8, 540.

Susanti R, Dafip M, Mustikaningtyas D (2023). OncomiR structure and network prediction on Adenomatosis Polyposis Coli (APC) gene silencing regulation in Colorectal Cancer. *Trends in Sciences*. 20(10):6168–8.

Takamizawa, J., Konishi, H., Yanagisawa, K., Tomida, S., Osada, H., Endoh, H., Harano, T., Yatabe, Y., Nagino, M., Nimura, Y., Mitsudomi, T., & Takahashi, T. (2004). Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer research*, 64(11), 3753–3756.

Tang, J., Li, X., Cheng, T., & Wu, J. (2021). miR-21-5p/SMAD7 axis promotes the progress of lung cancer. *Thoracic cancer*, 12(17), 2307–2313

Toma, I., Porfire, A. S., Tefas, L. R., Berindan-Neagoe, I., & Tomuță, I. (2022). A Quality by Design Approach in Pharmaceutical Development of Non-Viral Vectors with a Focus on miRNA. *Pharmaceutics*, 14(7), 1482.

Trabucchi, M., Briata, P., Garcia-Mayoral, M., Haase, A. D., Filipowicz, W., Ramos, A., Gherzi, R., & Rosenfeld, M. G. (2009). The RNA-binding protein KSRP promotes the biogenesis of a subset of microRNAs. *Nature*, 459(7249), 1010–1014.

van Zandwijk, N., Pavlakis, N., Kao, S. C., Linton, A., Boyer, M. J., Clarke, S., Huynh, Y., Chrzanowska, A., Fulham, M. J., Bailey, D. L., Cooper, W. A., Kritharides, L., Ridley, L., Pattison, S. T., MacDiarmid, J., Brahmbhatt, H., & Reid, G. (2017). Safety and activity of microRNA-loaded minicells in patients with recurrent malignant pleural

mesothelioma: a first-in-man, phase 1, open-label, dose-escalation study. *The Lancet. Oncology*, 18(10), 1386–1396.

Wang, Y. F., Ao, X., Liu, Y., Ding, D., Jiao, W. J., Yu, Z., Zhai, W. X., Dong, S. H., He, Y. Q., Guo, H., & Wang, J. X. (2019). MicroRNA-608 Promotes Apoptosis in Non-Small Cell Lung Cancer Cells Treated With Doxorubicin Through the Inhibition of TFAP4. *Frontiers in genetics*, 10, 809.

Wang, Z., Chen, Z., Gao, Y., Li, N., Li, B., Tan, F., Tan, X., Lu, N., Sun, Y., Sun, J., Sun, N., & He, J. (2011). DNA hypermethylation of microRNA-34b/c has prognostic value for stage I non-small cell lung cancer. *Cancer biology & therapy*, 11(5), 490–496.

Xiong, S., Zheng, Y., Jiang, P., Liu, R., Liu, X., & Chu, Y. (2011). MicroRNA-7 inhibits the growth of human non-small cell lung cancer A549 cells through targeting BCL-2. *International journal of biological sciences*, 7(6), 805–814.

Xu, Y., Chai, B., Wang, X., Wu, Z., Gu, Z., Liu, X., Zhao, Y., Chen, T., Ma, Z., & Sun, Q. (2022). miRNA-199a-5p/SLC2A1 axis regulates glucose metabolism in non-small cell lung cancer. *Journal of Cancer*, 13(7), 2352–2361.

Yang, M., Shen, H., Qiu, C., Ni, Y., Wang, L., Dong, W., Liao, Y., & Du, J. (2013). High expression of miR-21 and miR-155 predicts recurrence and unfavourable survival in non-small cell lung cancer. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, 49(3), 604–615.

Yang, T., Thakur, A., Chen, T., Yang, L., Lei, G., Liang, Y., Zhang, S., Ren, H., & Chen, M. (2015). MicroRNA-15a

induces cell apoptosis and inhibits metastasis by targeting BCL2L2 in non-small cell lung cancer. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 36(6), 4357–4365.71.

Yasamineh, S., Kalajahi, H. G., Yasamineh, P., Yazdani, Y., Gholizadeh, O., Tabatabaie, R., Afkhami, H., Davodabadi, F., Farkhad, A. K., Pahlevan, D., Firouzi-Amandi, A., Nejati-Koshki, K., & Dadashpour, M. (2022). An overview on nanoparticle-based strategies to fight viral infections with a focus on COVID-19. *Journal of nanobiotechnology*, 20(1), 440.

Yin, Y., Cai, X., Chen, X., Liang, H., Zhang, Y., Li, J., Wang, Z., Chen, X., Zhang, W., Yokoyama, S., Wang, C., Li, L., Li, L., Hou, D., Dong, L., Xu, T., Hiroi, T., Yang, F., Ji, H., Zhang, J., ... Zhang, C. Y. (2014). Tumor-secreted miR-214 induces regulatory T cells: a major link between immune evasion and tumor growth. *Cell research*, 24(10), 1164–1180.

Yu, F., Xiao, R., Li, X., Hu, Z., Cai, L., & He, F. (2021). Combined effects of lung disease history, environmental exposures, and family history of lung cancer to susceptibility of lung cancer in Chinese non-smokers. *Respiratory research*, 22(1), 210.

Yue, J., Lv, D., Wang, C., Li, L., Zhao, Q., Chen, H., & Xu, L. (2018). Epigenetic silencing of miR-483-3p promotes acquired gefitinib resistance and EMT in EGFR-mutant NSCLC by targeting integrin $\beta 3$. *Oncogene*, 37(31), 4300–4312.

Zhang, J., Liu, J., Liu, Y., Wu, W., Li, X., Wu, Y., Chen, H., Zhang, K., & Gu, L. (2015). miR-101 represses lung cancer by inhibiting interaction of fibroblasts and cancer

cells by down-regulating CXCL12. *Biomedicine & pharmacotherapy* = *Biomedecine & pharmacotherapie*, 74, 215–221.

Zhu, B., Cao, X., Zhang, W., Pan, G., Yi, Q., Zhong, W., & Yan, D. (2019). MicroRNA-31-5p enhances the Warburg effect via targeting FIH. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 33(1), 545–556.

REDOX-SENSITIVE REGULATION OF OXIDATIVE STRESS AND APOPTOSIS IN CANCER: THE MOLECULAR AND TRANSLATIONAL ROLES OF PHYTOCHEMICALS

Gönül Zişan ÖNCEL¹

1. INTRODUCTION

Malignancies are multifactorial diseases characterized by genetic and epigenetic alterations, as well as significant disruptions in cellular redox homeostasis (Trachootham, Alexandre, & Huang, 2009). Current data indicate that oxidative stress plays a central role in tumorigenesis, tumor progression, and the development of treatment resistance (Reuter, Gupta, Chaturvedi, & Aggarwal, 2010). Reactive oxygen species (ROS), once considered merely metabolic byproducts, are now recognized as essential signaling molecules that regulate proliferation, differentiation, and cell survival (Sena & Chandel, 2012). However, chronic oxidative imbalance promotes malignant transformation by inducing DNA damage, genomic instability, and disruption of apoptotic mechanisms (Liou & Storz, 2010). Escape from apoptosis, a distinctive feature of cancer cells, allows tumor cells to survive even under stressful microenvironmental conditions and forms the basis of resistance to chemotherapy and radiotherapy (Carneiro & El-Deiry, 2020; Hanahan, 2022). The relationship between oxidative stress and apoptosis varies depending on cellular conditions; the intensity and duration of ROS levels can activate signaling pathways that both support survival and trigger cell death (Sies & Jones, 2020). Cancer cells maintain this balance through redox adaptation,

¹ Assistant Professor, Kafkas University, Faculty of Medicine, Medical Biology, zisanoncel@gmail.com, ORCID: 0000-0003-4018-9920

strengthening their antioxidant defenses to gain a proliferative advantage while suppressing apoptotic signals (Hayes, Dinkova-Kostova, & Tew, 2020). In this context, phytochemicals are gaining increasing attention as natural modulators of redox balance and apoptotic signaling. Phytochemicals, including flavonoids, polyphenols, and volatile oil components, are natural compounds known for their antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer properties (Gautam, Mantha, & Mittal, 2014; Kopustinskiene, Jakstas, Savickas, & Bernatoniene, 2020). Unlike single-targeted chemotherapeutics, these compounds can simultaneously modulate multiple signaling pathways such as PI3K/Akt, MAPK, and p53 through pleiotropic mechanisms; and it has been reported that many phytochemicals exhibit selective cytotoxicity against cancer cells while relatively sparing non-malignant cells (Abotaleb et al., 2018; Kopustinskiene et al., 2020; Liskova et al., 2020)

This section focuses on the effects of phytochemicals on redox-sensitive signaling pathways and apoptotic processes, as well as on the roles of oxidative stress and apoptosis in cancer biology. Based on molecular mechanisms supported by preclinical findings, the regulatory effects of natural compounds on oxidative stress and apoptosis are discussed in terms of their potential contributions to the development of anticancer strategies and future translational research.

2. OXIDATIVE STRESS IN CANCER BIOLOGY

2.1.Sources of Reactive Oxygen Species in Cancer Cells

Reactive oxygen species are continuously generated in cells during normal metabolic processes (Sies & Jones, 2020). In cancer cells, however, ROS production is markedly elevated due to both intrinsic metabolic alterations and extrinsic factors within the tumor microenvironment (Hayes et al., 2020). Mitochondria

represent a primary source of intracellular ROS, particularly through electron leakage from the electron transport chain during oxidative phosphorylation. Oncogenic transformation is often accompanied by mitochondrial dysfunction, leading to inefficient electron transfer and enhanced superoxide generation (Cheung & Vousden, 2022).

In addition to mitochondrial sources, NADPH oxidase (NOX) enzymes play a significant role in ROS production in cancer cells (Cheung & Vousden, 2022). Several NOX isoforms are overexpressed or hyperactivated in different tumor types, contributing to sustained ROS signaling that promotes proliferation, migration, and survival (Hayes et al., 2020). Chronic inflammation within the tumor microenvironment further amplifies ROS generation through activated immune cells, including macrophages and neutrophils, which release large amounts of ROS as part of the inflammatory response (Hanahan, 2022; Reuter et al., 2010).

Hypoxia, a common feature of solid tumors, also contributes to oxidative stress. Fluctuations in oxygen availability trigger intermittent hypoxia–reoxygenation cycles, leading to bursts of ROS production (Cheung & Vousden, 2022). These dynamic redox changes activate hypoxia-responsive and redox-sensitive signaling pathways (especially HIF-1 α) that support tumor adaptation and progression (Hanahan, 2022; Singleton, Macann, & Wilson, 2021).

2.2 Oxidative DNA Damage and Genomic Instability

Excessive ROS levels can directly damage cellular macromolecules, with DNA being a primary target (Cheung & Vousden, 2022). The most common marker of oxidative stress-induced mutagenesis is 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxo-dG) lesions; If they escape DNA repair mechanisms (particularly Base Excision Repair), they lead to point mutations

(G: C > T: A transversions), chromosomal instability, and oncogene activation/tumor suppressor gene inactivation (Srinivas, Tan, Vellayappan, & Jeyasekharan, 2019).

Cancer cells frequently exhibit defects in DNA damage response and repair pathways, exacerbating the mutagenic consequences of oxidative stress. The accumulation of oxidative DNA damage not only drives tumor initiation but also contributes to intratumoral heterogeneity, which underlies disease progression and therapeutic resistance (Hanahan, 2022). Thus, oxidative stress serves as both a driver of genetic diversity and a selective pressure that favors the survival of more aggressive cancer cell clones.

2.3 Redox Homeostasis and Cancer Cell Adaptation

Cancer cells maintain a balanced redox state despite high ROS levels to avoid oxidative damage. This adaptation is regulated by increased antioxidant systems, such as glutathione, superoxide dismutase, catalase, and peroxiredoxins, as well as redox-sensitive transcription factors (Hayes et al., 2020). While normal cells depend on low and tightly controlled ROS levels, cancer cells function at a higher oxidative threshold (Trachootham et al., 2009). This distinct redox environment allows selective induction of cancer cell death when ROS levels are increased or antioxidant defenses are suppressed, while normal cells are relatively protected (Harris & DeNicola, 2020; Hayes et al., 2020). Therefore, oxidative stress is considered an important regulator affecting apoptotic sensitivity in cancer cells; targeting redox-sensitive signaling networks represents a meaningful approach for selective anticancer strategies.

The effect of oxidative stress on cancer cell fate is shaped through its interaction with redox-sensitive signaling pathways. ROS are not only molecules that cause cellular damage, but also signaling mediators that direct survival or apoptotic responses

depending on their concentrations, intracellular localization, and duration. The continuous activation of redox-sensitive pathways, such as Nrf2/ARE and NF- κ B, contributes to the suppression of apoptotic signals and to treatment resistance by supporting antioxidant defenses and cell survival (Reuter et al., 2010; Sies & Jones, 2020). Conversely, disruption of redox homeostasis can trigger mitochondrial dysfunction, caspase activation, and programmed cell death (Carneiro & El-Deiry, 2020; Lin et al., 2023).

3. APOPTOTIC PATHWAYS IN CANCER CELLS

Apoptosis is a regulated form of cell death that maintains tissue homeostasis by removing damaged or dysfunctional cells (Strasser & Vaux, 2020). While normal tissues maintain a balance between cell proliferation and cell death, this balance is disrupted in cancer, allowing malignant cells to survive despite adverse conditions. This situation makes evasion of apoptosis a fundamental mechanism associated with tumor development, progression, and treatment resistance (Hanahan, 2022). Apoptotic signaling occurs through two main pathways: the intrinsic (mitochondrial) and the extrinsic (death receptor-mediated) pathways (Carneiro & El-Deiry, 2020). Although their initial mechanisms differ, these pathways interact and are both regulated by oxidative stress and redox-sensitive signaling networks (Hayes et al., 2020).

Cellular stresses such as DNA damage, oxidative stress, and oncogenic signals activate the intrinsic apoptotic pathway. This pathway is mediated by mitochondria, which play a central role in determining cell fate. Mitochondrial outer membrane permeabilization is an irreversible step in intrinsic apoptosis and is regulated by the Bcl-2 protein family (Kalkavan & Green, 2018). Pro-apoptotic Bax and Bak proteins promote this process by releasing cytochrome c into the cytosol, while anti-apoptotic

proteins such as Bcl-2 and Bcl-xL maintain mitochondrial integrity (Strasser & Vaux, 2020). The balance between these proteins determines whether the cell undergoes apoptosis. The formation of the apoptosome following cytochrome c release activates caspase-9, and the subsequent involvement of executive caspases leads to the characteristic morphological and biochemical features of apoptosis (Carneiro & El-Deiry, 2020).

The intrinsic apoptotic pathway is frequently disrupted in cells that have undergone malignant transformation (Hanahan, 2022). This resistance to mitochondrial apoptosis is associated with increased levels of anti-apoptotic Bcl-2 family proteins (Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1), loss or inactivation of pro-apoptotic proteins, and impaired caspase activation (Strasser & Vaux, 2020). Oxidative stress plays a dual role in this process: low and moderate levels of ROS signaling support cellular adaptation and proliferation, while excessive ROS accumulation leads to mitochondrial dysfunction and apoptotic cell death (Sies & Jones, 2020; Vyas, Zaganjor, & Haigis, 2016).

The extrinsic apoptotic pathway is activated by the binding of extracellular death ligands to cell-surface death receptors. Members of the TNF receptor superfamily, such as Fas (CD95), TNF receptor 1 (TNFR1), and TRAIL receptors, are involved in this process (Carneiro & El-Deiry, 2020). Ligand–receptor interaction leads to the formation of the death-inducing signaling complex (DISC), which activates the initiator caspase-8. Activated caspase-8 can initiate mitochondria-independent apoptosis by directly activating executor caspases (Strasser & Vaux, 2020). Additionally, caspase-8 can interact with the intrinsic pathway by cleaving the Bid protein, thereby increasing mitochondrial outer membrane permeabilization and enhancing the apoptotic signal (Tummers & Green, 2017).

Neoplastic cells have developed various molecular mechanisms to weaken extrinsic apoptotic signaling and evade immune surveillance. These mechanisms include decreased levels of death receptors (DR4/DR5), increased levels of decoy receptors (DcR) that bind ligands but do not transmit signals, and increased levels of inhibitory proteins such as c-FLIP that inhibit caspase-8 activation in the DISC complex (Carneiro & El-Deiry, 2020; Tummers & Green, 2017). These changes contribute to tumor cells becoming resistant to death receptor agonists, such as TRAIL. Furthermore, chronic inflammation and oxidative stress in the tumor microenvironment divert death receptor signaling away from the apoptotic pathway, leading to a response that supports cell proliferation and survival via NF- κ B activation (Von Karstedt, Montinaro, & Walczak, 2017).

Cancer cells develop various escape mechanisms to survive under cellular stress conditions by suppressing apoptotic signaling (Hanahan, 2022). One of the most critical events in this process is the loss of function of the tumor suppressor protein p53, a key regulator of responses to DNA damage and oxidative stress. The mutation or degradation of p53 reduces the transcriptional activation of pro-apoptotic genes, thereby decreasing cells' sensitivity to apoptotic stimuli (Aubrey, Kelly, Janic, Herold, & Strasser, 2018). Additionally, the continuous activation of survival-supporting signaling pathways such as PI3K/Akt and NF- κ B enhances apoptosis resistance. These pathways increase the expression of anti-apoptotic proteins, suppress caspase activation, and support antioxidant defenses, enabling cancer cells to tolerate high oxidative stress (Karin & Greten, 2005; Manning & Toker, 2017). The combined action of redox adaptation and survival signals creates a cellular environment where apoptotic thresholds are elevated. Apoptosis evasion is closely linked to therapeutic resistance, as many anticancer treatment approaches rely on inducing oxidative stress and

apoptotic cell death to eliminate tumor cells. Functional suppression of apoptotic pathways can allow cancer cells to escape treatment-induced stress and lead to disease progression. Therefore, restoring apoptotic sensitivity is considered a key target in the development of effective anticancer strategies (Carneiro & El-Deiry, 2020; Fulda, 2015).

4. REDOX-SENSITIVE SIGNALING PATHWAYS IN CANCER

Redox-sensitive signaling pathways play a crucial role in determining the fate of cancer cells by linking oxidative stress-induced signals to molecular processes related to cell survival, proliferation, inflammation, and apoptosis (Sies & Jones, 2020). Cancer cells are characterized by high ROS levels that function in signal transduction and, under these conditions, depend on the adaptive activation of redox-sensitive pathways that enhance antioxidant defense and suppress apoptotic signaling to survive. In this context, the Nrf2/ARE, NF- κ B, PI3K/Akt, and MAPK signaling pathways stand out for their roles in redox regulation and tumor progression.

4.1 Nrf2/ARE Signaling Pathway

The Nrf2 pathway is a key regulator of cellular antioxidant defense and redox homeostasis. Under basal conditions, Nrf2 is suppressed via Keap1; however, under oxidative or electrophilic stress, it becomes stabilized, translocates to the nucleus, and increases the expression of ARE-mediated antioxidant genes (Suzuki & Yamamoto, 2015). In cancer cells, Nrf2 signaling exhibits a dual role: transient activation protects normal cells from oxidative damage. In contrast, persistent or abnormal activation supports tumor cell survival and resistance to treatment by enhancing antioxidant capacity and metabolic adaptation (de la Vega, Chapman, & Zhang, 2018; Lin et al., 2023). Glutathione metabolism, through the upregulation of target genes such as

NQO1 and HO-1, contributes to maintaining redox balance despite high ROS levels. Constant Nrf2 activation suppresses apoptotic signaling and raises the apoptotic threshold by limiting ROS accumulation and supporting mitochondrial integrity (DeNicola et al., 2011). With these properties, Nrf2 is a central regulator and potential therapeutic target in the interaction between oxidative stress and apoptosis (Hayes et al., 2020).

4.2 NF- κ B Signaling Pathway

Nuclear factor kappa B (NF- κ B) is a central transcription factor regulating inflammation, cell survival, and immune evasion in cancer. NF- κ B signaling is highly sensitive to the cellular redox state and is frequently constitutively activated in malignant cells (Taniguchi & Karin, 2018). Under oxidative stress conditions, ROS can activate the NF- κ B pathway by activating the I κ B kinase (IKK) complex and redox-dependent modification of signaling proteins (e.g., the p65 subunit) (Morgan & Liu, 2011). Activated NF- κ B contributes to apoptosis resistance by increasing the expression of genes encoding anti-apoptotic proteins such as Bcl-2 and c-IAPs, pro-inflammatory cytokines such as TNF- α and IL-6, and various survival factors. This supports cell proliferation and tumor progression, particularly in tumors associated with chronic inflammation (Greten & Grivennikov, 2019; Karin & Greten, 2005). The relationship between NF- κ B and oxidative stress is bidirectional; ROS triggers NF- κ B activation, while antioxidant (e.g., MnSOD/SOD2) and cytoprotective genes induced via NF- κ B limit excessive oxidative damage. This feedback mechanism allows cancer cells to evade ROS-induced apoptotic signals and convert oxidative signals into growth and survival advantages (Bubici, Papa, Dean, & Franzoso, 2006; Morgan & Liu, 2011).

4.3 PI3K/Akt Signaling Pathway

The phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/Akt signaling pathway is a key regulator of cell survival, metabolism, and proliferation, and is frequently constitutively activated in cancer (Hoxhaj & Manning, 2020). Activation of this pathway contributes to the development of resistance to apoptotic stimuli and increased cellular tolerance to oxidative stress. ROS can modulate PI3K/Akt signaling, particularly through redox-sensitive inhibition of phosphatases such as PTEN (Lee et al., 2002). Structural PI3K/Akt activation in cancer cells supports mitochondrial integrity, suppresses pro-apoptotic proteins such as Bax, and enhances antioxidant defenses. Akt-mediated phosphorylation facilitates metabolic adaptations that sustain cell survival under oxidative stress conditions by limiting caspase activation and mitochondrial apoptotic signals (Fruman et al., 2017). Furthermore, the PI3K/Akt pathway interacts with Nrf2 and NF- κ B signaling networks, forming an integrated regulatory network that coordinates redox balance and survival-promoting transcriptional responses (Hayes et al., 2020). In this context, redox-dependent activation of PI3K/Akt contributes to elevating the apoptotic threshold in cancer cells. It constitutes an important molecular basis for the development of resistance to oxidative stress-based therapies (Fruman et al., 2017).

4.4 MAPK Signaling Pathways

In particular, mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathways such as ERK, c-Jun N-terminal kinase (JNK), and p38 MAPK play a role in converting oxidative stress-induced signals into cellular responses and exhibit binding-dependent effects in cancer cells (Ray, Huang, & Tsuji, 2012). Moderate increases in ROS support ERK activation, enhancing cell proliferation and survival. At the same time, high and persistent oxidative stress conditions activate the JNK and p38 pathways, linking them to stress responses and apoptotic processes (Yue & López, 2020). MAPK signaling is often imbalanced in cancer cells; ERK-

mediated survival responses become dominant, while apoptotic signals transmitted via JNK and p38 are weakened. For example, continuous activation of ERK supports proliferation by increasing cyclin D1 expression (Samatar & Poulikakos, 2014), while suppression of JNK and p38 limits caspase activation and mitochondrial apoptotic responses (Wagner & Nebreda, 2009). This selective MAPK modulation enhances redox adaptation and contributes to the development of apoptosis resistance.

These redox-sensitive pathways form an interconnected network that integrates oxidative stress signals into a comprehensive response rather than functioning in isolation within cancer cells (Gorrini, Harris, & Mak, 2013). For example, PI3K/Akt activation supports Nrf2-mediated antioxidant gene expression (Mitsuishi et al., 2012), while NF- κ B signaling enhances this adaptive redox response by regulating both inflammatory responses and anti-apoptotic proteins (Taniguchi & Karin, 2018). Similarly, MAPK pathways balance proliferative ERK signaling with stress response and apoptosis-related JNK/p38 signaling depending on ROS levels (Yue & López, 2020). The coordination between these pathways allows cancer cells to adapt to variable redox conditions, suppress apoptotic signals, and maintain a survival advantage. This integrated signaling network supports tumor growth and progression but may also limit the effectiveness of therapies targeting individual pathways due to parallel and compensatory mechanisms. Therefore, approaches that disrupt redox homeostasis at multiple levels or simultaneously modulate interrelated signaling networks offer more rational strategies for reactivating apoptosis and overcoming treatment resistance (Vasan, Baselga, & Hyman, 2019). This perspective also provides a conceptual basis for explaining the anticancer potential of phytochemicals through their multi-targeted effects on redox-sensitive signaling networks (Liskova et al., 2019).

5. PHYTOCHEMICALS AS MOLECULAR MODULATORS OF OXIDATIVE STRESS AND APOPTOSIS

Phytochemicals, as plant-derived bioactive compounds, are receiving significant attention in cancer biology due to their both preventive and therapeutic potential. While most traditional anticancer agents target a limited number of molecular targets, phytochemicals typically exhibit pleiotropic effects by simultaneously modulating multiple redox-sensitive signaling pathways (Koeberle & Werz, 2014; Surh, 2003). This multi-targeted effect profile is significant in cancer cells, where oxidative stress, apoptotic resistance, and survival signals are tightly intertwined (Chikara et al., 2018). A growing number of experimental studies show that phytochemicals can disrupt adaptive antioxidant responses and reactivate apoptotic pathways by reshaping redox balance. These effects primarily arise through modulation of key redox-sensitive signaling networks, such as Nrf2/ARE, NF- κ B, PI3K/Akt, and MAPK (Gorrini et al., 2013), and biological responses are strongly dependent on cellular context, dose, and duration of exposure (Hayes et al., 2020).

5.1 Flavonoids and Polyphenols: Redox-Modulation and Overcoming Therapeutic Resistance

Flavonoids and polyphenols are among the best-characterized phytochemical groups for modulating redox regulation and apoptotic signaling in cancer cells. These compounds can shift redox balance in favor of apoptotic signaling by exerting a controlled pro-oxidant effect in cancer cells with high basal ROS levels (Halliwell, 2008). This property underlies the greater selective cytotoxicity of flavonoids and polyphenols against cancer cells than against normal cells. For example, quercetin induces intrinsic apoptosis in many cancer cell lines by causing loss of mitochondrial membrane potential, an increased

Bax/Bcl-2 ratio, and activation of caspase-9 and caspase-3 (Tang et al., 2020). Similarly, curcumin suppresses the PI3K/Akt and NF- κ B pathways by increasing ROS levels, leading to decreased anti-apoptotic proteins and mitochondrial dysfunction (Giordano & Tommonaro, 2019). Other polyphenols, such as resveratrol and luteolin, have also been reported to modulate MAPK pathways in a binding-dependent manner, suppressing ERK-mediated survival signals while enhancing apoptotic responses via JNK and p38 (Ko et al., 2017). These compounds also target redox-sensitive transcription factors. Sulforaphane exerts cytoprotective effects by activating Nrf2 in normal cells, whereas in cancer cells it may increase susceptibility to oxidative stress by dysregulating the hyperactive Nrf2 signaling pathway (Hayes et al., 2020). In parallel, flavonoid and polyphenol inhibition of NF- κ B contributes to the suppression of anti-apoptotic and pro-inflammatory gene expression and the lowering of apoptotic thresholds (Surh, 2003).

From a therapeutic perspective, the ability of these molecules to simultaneously target multiple redox-sensitive signaling pathways allows them to overcome compensatory resistance mechanisms specific to single-target therapies, making them strong candidates for use both as independent agents and in combination with chemotherapeutics.

5.3 Essential Oil Components: Mitochondrial Targeting and Apoptotic Responses

Essential oil components are phytochemicals that can cause significant mitochondrial dysfunction in cancer cells by directly interacting with mitochondrial membranes, particularly due to their lipophilic nature (Gautam et al., 2014). This interaction, when combined with the impaired redox homeostasis and metabolic fragility of malignant cells, results in a multi-targeted effect profile that can simultaneously regulate redox

balance and apoptotic signaling at the molecular level. Monoterpene phenols such as thymol and carvacrol can trigger intrinsic apoptotic responses characterized by loss of mitochondrial membrane potential, increased ROS production, and cytochrome c release (Khan, Bahuguna, Kumar, Bajpai, & Kang, 2018; Salehi et al., 2018). These compounds have been shown to suppress ERK-mediated proliferative signals while activating JNK and p38 MAPK pathways, thereby promoting stress responses and apoptosis (Kang et al., 2016; Yin et al., 2012). Furthermore, thymol and similar essential oil components have been reported to reduce anti-apoptotic protein expression by limiting NF- κ B activation (Arunasree, 2010; Li et al., 2017). Notably, these effects are often dose-dependent and are more pronounced in cancer cells than in normal cells; this is associated with impaired redox homeostasis and metabolic sensitivity in malignant cells (Trachootham et al., 2009). This synergistic effect, which restores apoptotic sensitivity by disrupting mitochondrial integrity, positions essential oil components as unique and potent therapeutic candidates within the framework of redox-driven cancer biology.

6. EVIDENCE ON THE EFFECTS OF PHYTOCHEMICALS ON OXIDATIVE STRESS AND APOPTOSIS IN PRECLINICAL MODELS

Preclinical studies have demonstrated that phytochemicals play functionally and mechanistically significant roles in regulating oxidative stress and apoptotic signaling in cancer. In vitro cell culture systems and in vivo animal models are widely used to investigate how these compounds affect redox homeostasis, apoptotic pathways, and tumor progression. Although these models cannot fully reflect the biological complexity of human cancer, they provide an indispensable foundation for translational research to elucidate mechanisms of action and evaluate therapeutic potential.

Studies conducted on in vitro cancer cell line models have shown that phytochemicals such as quercetin, curcumin, and sulforaphane alter intracellular ROS levels in a concentration- and time-dependent manner and, consequently, rearrange redox-sensitive signaling networks (Giordano & Tommonaro, 2019; Hayes et al., 2020; Kopustinskiene et al., 2020). The application of these compounds often leads to mitochondrial dysfunction characterized by loss of mitochondrial membrane potential, increased mitochondrial ROS production, and cytochrome c release; this is followed by the activation of caspase-9 and caspase-3 and the initiation of the intrinsic apoptotic pathway (Tang et al., 2020). Simultaneously, the suppression of survival-supporting pathways such as PI3K/Akt and NF- κ B and the decreased expression of Bcl-2 family anti-apoptotic proteins further increase the sensitivity of cancer cells to apoptotic stimuli (Giordano & Tommonaro, 2019; Surh, 2003). In contrast, these effects are more limited in non-malignant cells, with phytochemicals exhibiting selective cytotoxicity (Halliwell, 2008). This selectivity is closely related to cancer cells operating under high basal oxidative stress and being closer to the redox tolerance threshold (Trachootham et al., 2009). Phytochemical-mediated redox disruption can push cancer cells beyond the oxidative toxicity threshold, while leaving normal cells with a relatively preserved redox balance (Kopustinskiene et al., 2020). In vitro models have played a critical role in defining this redox sensitivity and identifying molecular targets that drive selective apoptosis (Blowman, Magalhães, Lemos, Cabral, & Pires, 2018).

In vivo, findings from rodent tumor models support these mechanisms. In subcutaneous xenograft models, quercetin and curcumin administration have been reported to significantly reduce tumor volume, decrease lipid peroxidation and markers of DNA oxidative damage in tumor tissue, and increase the number of TUNEL-positive apoptotic cells (Giordano & Tommonaro,

2019; Tang et al., 2020). In orthotopic tumor models, phytochemicals such as sulforaphane and thymol have been shown not only to suppress tumor growth but also to reduce inflammatory cytokine levels in the tumor microenvironment and alter the activation status of redox-sensitive pathways (Hayes et al., 2020; Li et al., 2017). These effects are observed in conjunction with changes in the expression of apoptotic regulators, mediated by modulation of the Nrf2, NF- κ B, PI3K/Akt, and MAPK pathways (Ko et al., 2017; Kopustinskiene et al., 2020). Animal models also enable evaluation of systemic toxicity and tolerability. Many phytochemicals cause limited side effects in normal tissues at doses that exhibit antitumor activity and demonstrate acceptable safety profiles (Gautam et al., 2014). This supports the view that phytochemicals can exert selective effects by exploiting redox imbalances specific to cancer cells (Trachootham et al., 2009). Furthermore, in vivo studies reveal that phytochemicals can modulate not only tumor cells but also the tumor microenvironment through inflammation, oxidative stress, and immune responses (Paudel, Mishra, & Agarwal, 2023).

7. TRANSLATIONAL CHALLENGES AND STRATEGIC PERSPECTIVES FOR THE FUTURE

Despite strong preclinical evidence showing that phytochemicals have significant biological potential as modulators of oxidative stress and apoptosis in cancer, there are various structural and biological barriers to effectively and predictably translating these compounds into clinical practice. Clearly defining these limitations is critical for realistically evaluating the therapeutic value of phytochemicals and rationally directing future research.

One of the main issues limiting the translational use of phytochemicals is their low bioavailability. Many plant-derived

compounds exhibit pharmacokinetic disadvantages such as poor water solubility, rapid hepatic metabolism, and limited systemic absorption (Kopustinskiene et al., 2020). This situation may lead to a mismatch between preclinical findings and clinical outcomes, as the biological activity observed in in vitro systems may not be adequately reflected in tumor tissue under in vivo conditions (Choudhari, Mandave, Deshpande, Ranjekar, & Prakash, 2020). Therefore, the bioavailability issue is not only a pharmaceutical obstacle but also a fundamental factor limiting the clinical relevance of mechanistic interpretations.

Another significant challenge is dose standardization. Phytochemicals often exhibit dose-dependent bidirectional effects; at low concentrations, antioxidant and cytoprotective responses predominate, while at higher concentrations, increased oxidative stress and apoptotic cell death may be induced (Halliwell, 2008). This characteristic complicates the identification of an effective therapeutic window targeting cancer cells and necessitates the careful definition of appropriate dosage ranges (Trachootham et al., 2009). In particular, incorrect dosing can activate unwanted protective redox responses in tumor cells (Hayes et al., 2020).

Another factor complicating the clinical use of phytochemicals is inter-individual biological variability. Factors such as genetic background, metabolic enzyme profiles, and gut microbiota can significantly affect the biotransformation and biological activity of plant compounds (Di Lorenzo, Colombo, Biella, Stockley, & Restani, 2021; Kopustinskiene et al., 2020). This heterogeneity reduces the predictability of therapeutic responses, suggesting that phytochemicals should be evaluated within the framework of personalized cancer treatment.

From a mechanistic perspective, the pleiotropic effects of phytochemicals entail both advantages and potential risks

(Gautam et al., 2014). Simultaneous modulation of multiple redox-sensitive signaling networks can enhance therapeutic efficacy by suppressing compensatory survival mechanisms (Trachootham et al., 2009). However, this multi-targeted effect also carries the risk of off-target biological outcomes and unpredictable interactions with conventional anticancer therapies (Choudhari et al., 2020). Therefore, phytochemical–drug interactions need to be systematically evaluated, particularly in the context of combination therapies.

Looking ahead, strategies to enhance the translational potential of phytochemicals include nanoparticle-based delivery systems, liposomal formulations, and targeted delivery approaches, which enable increased bioavailability and selective accumulation in tumor tissue (Choudhari et al., 2020; Mostafa & Khojah, 2025). In parallel, evaluating phytochemicals in rational combination strategies with chemotherapy or targeted agents may enhance apoptotic responses and reduce treatment resistance (Trachootham et al., 2009). Future research focusing on well-designed preclinical models that incorporate physiologically relevant dose ranges and clinically relevant endpoints is expected to enable the optimization of patient selection and treatment strategies by providing a better understanding of tumor intracellular redox heterogeneity and identifying biomarkers that predict treatment response (Di Lorenzo et al., 2021). A multidisciplinary approach to these challenges could further support phytochemicals becoming an integral component of more effective, safer, and personalized anticancer treatments. (Gautam et al., 2014).

8. CONCLUSION

Oxidative stress and apoptosis are central, closely interlinked processes that determine the fate of cancer cells and exert decisive effects on tumor initiation, progression, and

response to treatment. Disruption of redox homeostasis enables cancer cells to utilize oxidative signals to support survival, while contributing to disease progression and the development of treatment resistance by suppressing apoptotic pathways. In this context, redox-sensitive signaling pathways, such as Nrf2/ARE, NF- κ B, PI3K/Akt, and MAPK, emerge as critical molecular nodes that govern the balance between oxidative stress and apoptotic sensitivity. Abnormal activation of these pathways supports redox adaptation and apoptosis resistance, making them therapeutically meaningful targets. Phytochemicals, on the other hand, play a regulatory role in this complex network as unique bioactive compounds with a multi-target effect profile that can simultaneously modulate oxidative stress levels, mitochondrial function, and apoptotic signaling. Their relatively selective cytotoxicity against cancer cells and their ability to restore apoptotic sensitivity through pleiotropic mechanisms make phytochemicals promising candidates for complementary or adjunctive anticancer approaches. Although challenges such as bioavailability, dose optimization, and individual variability persist in translating preclinical findings into clinical practice, advances in drug delivery technologies, rational combination strategies, and biomarker-based approaches offer significant opportunities to overcome these obstacles. Therefore, the systematic investigation of the redox-regulating and apoptotic effects of phytochemicals is expected to both deepen our understanding of cancer biology and contribute to the development of more effective and personalized anticancer strategies.

KAYNAKÇA

Abotaleb, M., Samuel, S. M., Varghese, E., Varghese, S., Kubatka, P., Liskova, A., & Büsselberg, D. (2018). Flavonoids in cancer and apoptosis. *Cancers*, 11(1), 28.

- Arunasree, K. (2010). Anti-proliferative effects of carvacrol on a human metastatic breast cancer cell line, MDA-MB 231. *Phytomedicine*, 17(8-9), 581-588.
- Aubrey, B. J., Kelly, G. L., Janic, A., Herold, M. J., & Strasser, A. (2018). How does p53 induce apoptosis and how does this relate to p53-mediated tumour suppression? *Cell Death & Differentiation*, 25(1), 104-113.
- Blowman, K., Magalhães, M., Lemos, M., Cabral, C., & Pires, I. (2018). Anticancer properties of essential oils and other natural products. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018(1), 3149362.
- Bubici, C., Papa, S., Dean, K., & Franzoso, G. (2006). Mutual cross-talk between reactive oxygen species and nuclear factor-kappa B: molecular basis and biological significance. *Oncogene*, 25(51), 6731-6748.
- Carneiro, B. A., & El-Deiry, W. S. (2020). Targeting apoptosis in cancer therapy. *Nature reviews Clinical oncology*, 17(7), 395-417.
- Cheung, E. C., & Vousden, K. H. (2022). The role of ROS in tumour development and progression. *Nature Reviews Cancer*, 22(5), 280-297.
- Chikara, S., Nagaprashantha, L. D., Singhal, J., Horne, D., Awasthi, S., & Singhal, S. S. (2018). Oxidative stress and dietary phytochemicals: Role in cancer chemoprevention and treatment. *Cancer letters*, 413, 122-134.
- Choudhari, A. S., Mandave, P. C., Deshpande, M., Ranjekar, P., & Prakash, O. (2020). Phytochemicals in cancer treatment: From preclinical studies to clinical practice. *Frontiers in pharmacology*, 10, 1614.
- de la Vega, M. R., Chapman, E., & Zhang, D. D. (2018). NRF2 and the Hallmarks of Cancer. *Cancer cell*, 34(1), 21-43.
- DeNicola, G. M., Karreth, F. A., Humpton, T. J., Gopinathan, A., Wei, C., Frese, K., . . . Calhoun, E. S. (2011). Oncogene-induced Nrf2 transcription promotes ROS detoxification and tumorigenesis. *Nature*, 475(7354), 106-109.
- Di Lorenzo, C., Colombo, F., Biella, S., Stockley, C., & Restani, P. (2021). Polyphenols and human health: The role of bioavailability. *Nutrients*, 13(1), 273.
- Fruman, D. A., Chiu, H., Hopkins, B. D., Bagrodia, S., Cantley, L. C., & Abraham, R. T. (2017). The PI3K pathway in human disease. *Cell*, 170(4), 605-635.

- Fulda, S. (2015). *Targeting apoptosis for anticancer therapy*. Paper presented at the Seminars in cancer biology.
- Gautam, N., Mantha, A. K., & Mittal, S. (2014). Essential oils and their constituents as anticancer agents: a mechanistic view. *BioMed research international*, 2014(1), 154106.
- Giordano, A., & Tommonaro, G. (2019). Curcumin and cancer. *Nutrients*, 11(10), 2376.
- Gorrini, C., Harris, I. S., & Mak, T. W. (2013). Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. *Nature reviews Drug discovery*, 12(12), 931-947.
- Greten, F. R., & Grivennikov, S. I. (2019). Inflammation and cancer: triggers, mechanisms, and consequences. *Immunity*, 51(1), 27-41.
- Halliwell, B. (2008). Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? *Archives of biochemistry and biophysics*, 476(2), 107-112.
- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of cancer: new dimensions. *Cancer discovery*, 12(1), 31-46.
- Harris, I. S., & DeNicola, G. M. (2020). The complex interplay between antioxidants and ROS in cancer. *Trends in cell biology*, 30(6), 440-451.
- Hayes, J. D., Dinkova-Kostova, A. T., & Tew, K. D. (2020). Oxidative stress in cancer. *Cancer cell*, 38(2), 167-197.
- Hoxhaj, G., & Manning, B. D. (2020). The PI3K-AKT network at the interface of oncogenic signalling and cancer metabolism. *Nature Reviews Cancer*, 20(2), 74-88.
- Kalkavan, H., & Green, D. R. (2018). MOMP, cell suicide as a BCL-2 family business. *Cell Death & Differentiation*, 25(1), 46-55.
- Kang, S.-H., Kim, Y.-S., Kim, E.-K., Hwang, J.-W., Jeong, J.-H., Dong, X., . . . Park, P.-J. (2016). Anticancer effect of thymol on AGS human gastric carcinoma cells. *Journal of microbiology and biotechnology*, 26(1), 28-37.
- Karin, M., & Greten, F. R. (2005). NF-κB: linking inflammation and immunity to cancer development and progression. *Nature reviews immunology*, 5(10), 749-759.
- Khan, I., Bahuguna, A., Kumar, P., Bajpai, V. K., & Kang, S. C. (2018). In vitro and in vivo antitumor potential of carvacrol nanoemulsion against human lung adenocarcinoma A549 cells via mitochondrial mediated apoptosis. *Scientific reports*, 8(1), 144.

- Ko, J.-H., Sethi, G., Um, J.-Y., Shanmugam, M. K., Arfuso, F., Kumar, A. P., . . . Ahn, K. S. (2017). The role of resveratrol in cancer therapy. *International journal of molecular sciences*, 18(12), 2589.
- Koeberle, A., & Werz, O. (2014). Multi-target approach for natural products in inflammation. *Drug discovery today*, 19(12), 1871-1882.
- Kopustinskiene, D. M., Jakstas, V., Savickas, A., & Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids as anticancer agents. *Nutrients*, 12(2), 457.
- Lee, S.-R., Yang, K.-S., Kwon, J., Lee, C., Jeong, W., & Rhee, S. G. (2002). Reversible inactivation of the tumor suppressor PTEN by H₂O₂. *Journal of Biological Chemistry*, 277(23), 20336-20342.
- Li, Y., Wen, J.-m., Du, C.-j., Hu, S.-m., Chen, J.-x., Zhang, S.-g., . . . Mao, X.-w. (2017). Thymol inhibits bladder cancer cell proliferation via inducing cell cycle arrest and apoptosis. *Biochemical and biophysical research communications*, 491(2), 530-536.
- Lin, L., Wu, Q., Lu, F., Lei, J., Zhou, Y., Liu, Y., . . . She, T. (2023). Nrf2 signaling pathway: current status and potential therapeutic targetable role in human cancers. *Frontiers in oncology*, 13, 1184079.
- Liou, G.-Y., & Storz, P. (2010). Reactive oxygen species in cancer. *Free radical research*, 44(5), 479-496.
- Liskova, A., Koklesova, L., Samec, M., Smejkal, K., Samuel, S. M., Varghese, E., . . . Danko, J. (2020). Flavonoids in cancer metastasis. *Cancers*, 12(6), 1498.
- Liskova, A., Kubatka, P., Samec, M., Zubor, P., Mlyncek, M., Bielik, T., . . . Büsselberg, D. (2019). Dietary phytochemicals targeting cancer stem cells. *Molecules*, 24(5), 899.
- Manning, B. D., & Toker, A. (2017). AKT/PKB signaling: navigating the network. *Cell*, 169(3), 381-405.
- Mitsuishi, Y., Taguchi, K., Kawatani, Y., Shibata, T., Nukiwa, T., Aburatani, H., . . . Motohashi, H. (2012). Nrf2 redirects glucose and glutamine into anabolic pathways in metabolic reprogramming. *Cancer cell*, 22(1), 66-79.
- Morgan, M. J., & Liu, Z.-g. (2011). Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling. *Cell research*, 21(1), 103-115.
- Mostafa, M. A., & Khojah, H. M. (2025). Nanoparticle-based delivery systems for phytochemicals in cancer therapy: molecular mechanisms, clinical evidence, and emerging trends. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 1-17.

- Paudel, S., Mishra, N., & Agarwal, R. (2023). Phytochemicals as immunomodulatory molecules in cancer therapeutics. *Pharmaceuticals*, 16(12), 1652.
- Ray, P. D., Huang, B.-W., & Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular signalling*, 24(5), 981-990.
- Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free radical biology and medicine*, 49(11), 1603-1616.
- Salehi, B., Mishra, A. P., Shukla, I., Sharifi-Rad, M., Contreras, M. d. M., Segura-Carretero, A., . . . Sharifi-Rad, J. (2018). Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses. *Phytotherapy research*, 32(9), 1688-1706.
- Sena, L. A., & Chandel, N. S. (2012). Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. *Molecular cell*, 48(2), 158-167.
- Sies, H., & Jones, D. P. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature reviews Molecular cell biology*, 21(7), 363-383.
- Singleton, D. C., Macann, A., & Wilson, W. R. (2021). Therapeutic targeting of the hypoxic tumour microenvironment. *Nature reviews Clinical oncology*, 18(12), 751-772.
- Srinivas, U. S., Tan, B. W., Vellayappan, B. A., & Jeyasekharan, A. D. (2019). ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox biology*, 25, 101084.
- Strasser, A., & Vaux, D. L. (2020). Cell death in the origin and treatment of cancer. *Molecular cell*, 78(6), 1045-1054.
- Surh, Y.-J. (2003). Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nature Reviews Cancer*, 3(10), 768-780.
- Suzuki, T., & Yamamoto, M. (2015). Molecular basis of the Keap1–Nrf2 system. *Free radical biology and medicine*, 88, 93-100.
- Tang, S.-M., Deng, X.-T., Zhou, J., Li, Q.-P., Ge, X.-X., & Miao, L. (2020). Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 121, 109604.
- Taniguchi, K., & Karin, M. (2018). NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nature reviews immunology*, 18(5), 309-324.
- Trachootham, D., Alexandre, J., & Huang, P. (2009). Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? *Nature reviews Drug discovery*, 8(7), 579-591.

- Tummers, B., & Green, D. R. (2017). Caspase-8: regulating life and death. *Immunological reviews*, 277(1), 76-89.
- Vasan, N., Baselga, J., & Hyman, D. M. (2019). A view on drug resistance in cancer. *Nature*, 575(7782), 299-309.
- Von Karstedt, S., Montinaro, A., & Walczak, H. (2017). Exploring the TRAILs less travelled: TRAIL in cancer biology and therapy. *Nature Reviews Cancer*, 17(6), 352-366.
- Vyas, S., Zaganjor, E., & Haigis, M. C. (2016). Mitochondria and cancer. *Cell*, 166(3), 555-566.
- Yin, Q.-h., Yan, F.-x., Zu, X.-Y., Wu, Y.-h., Wu, X.-p., Liao, M.-c., . . . Zhuang, Y.-z. (2012). Anti-proliferative and pro-apoptotic effect of carvacrol on human hepatocellular carcinoma cell line HepG-2. *Cytotechnology*, 64(1), 43-51.
- Yue, J., & López, J. M. (2020). Understanding MAPK signaling pathways in apoptosis. *International journal of molecular sciences*, 21(7), 2346.

FUCOIDAN BASED COMBINATION STRATEGIES IN BREAST CANCER THERAPY¹

Duygu AYGÜNEŞ-JAFARI²

1-Introduction

Breast cancer is still among the top cancers killing women across the world. Even with all the advanced targeted therapy, a big challenge is chemoresistance due to heterogeneity in tumors and adaptive survival mechanisms that develop within a relatively short period of treatment (Kannan et al., 2025). The commonly used standard chemotherapeutic agents comprise paclitaxel, doxorubicin, and cisplatin. However, these drugs are associated with toxicities that become dose-limiting neuropathy, neutropenia or cardiotoxicity, and many other side effects which constrain their use (Dombernowsky et al., 1996). Additionally, aggressive tumors often evade chemotherapy through altered signaling pathways, drug efflux and DNA repair, leading to relapse and poor outcomes.

These concerns have led to a growing interest in using natural compounds as adjuvant therapies to improve the efficacy and reduce the toxicity of conventional treatments.

Natural products, such as curcumin, polyphenols, and marine polysaccharides, tend to have low systemic toxicity and multimodal mechanisms of action. These mechanisms include immunomodulatory effects that can complement the action of standard drugs (Vetvicka & Vetvickova, 2017; Saeed et al., 2021).

Within this framework, **fucoïdan** has emerged as a promising adjuvant agent. Fucoïdan is a sulfated polysaccharide found in brown algae, known for its **low toxicity** and pleiotropic biological activities (Saeed et al., 2021). It exhibits direct anti-tumor effects (inducing apoptosis and inhibiting cancer cell growth) as well as immune-stimulating properties (activating natural killer cells and macrophages) (Vetvicka & Vetvickova, 2017; Memorial Sloan Kettering Cancer Center, 2022). These characteristics make fucoïdan an attractive candidate to combine with chemotherapeutics to possibly obtain synergistic anticancer effects.

¹ This work is originated from PhD thesis of Duygu Aygüneş Jafari (Aygüneş, 2014)

² Dr, Ege University Faculty of Medicine Department of Medical Biology, duygu.aygunes@ege.edu.tr, ORCID: 0000-0003-4756-7365

The rationale is that fucoidan's pro-apoptotic and anti-metastatic actions, in addition to its ability to modulate tumor immune microenvironment, could increase the efficacy of chemotherapy (without increasing side effects) by protecting normal tissues against collateral damage; side effects.

Specifically in breast cancer therapy, where resistance develops very rapidly during treatment (regardless of line), an administration regimen involving fucoidan might delay or prevent resistance from developing while improving patient outcomes.

The present chapter explores this strategy in detail; outlining the properties of fucoidan, its mechanistic interactions with cancer pathways and recent research (including our own experimental findings) on combining fucoidan with chemotherapeutic agents in breast cancer cells. We also discuss the translational significance of these findings and how fucoidan-based combination approaches could be integrated into future breast cancer treatment strategies.

2. Fucoidan: Source and Structure

2.1. Natural Sources and Structural Heterogeneity

Fucoidan is a sulfated polysaccharide, predominantly sequestered within the cell wall matrix of brown seaweeds (*Phaeophyceae*). While this class of algae encompasses a broad diversity of marine flora, the isolation of bioactive fucoidan for pharmacological applications; particularly in oncology; relies heavily on a select group of commercially and scientifically significant species. The most prominent natural sources utilized in current research include *Fucus vesiculosus* (bladderwrack), *Undaria pinnatifida* (wakame), *Laminaria japonica* (kombu), *Saccharina latissima* (sugar kelp) and *Cladosiphon okamuranus* (mozuku) (Lu et al, 2018) (Table 1)

It is imperative to note that the term "fucoidan" does not designate a single, monolithic chemical entity with a fixed structure. Rather, it refers to a family of heterogeneous polymers whose structural architecture (defined by monosaccharide composition, molecular weight distribution and the degree of sulfation) exhibits significant plasticity. This physicochemical variability is not only species-specific but is also modulated by extrinsic factors such as the maturity of the algae, harvest seasonality and geographic location. Furthermore, the downstream biological activities of fucoidan are highly dependent on the methodology used for its extraction as well as purification protocols, hence needs to be intensely characterized in therapeutic development.

Name of the species	Common Name	Note on Source Material
<i>Fucus vesiculosus</i>	Bladderwrack	One of the most studied sources for breast cancer research.
<i>Undaria pinnatifida</i>	Wakame	Commonly consumed in Asian diets; high commercial availability.
<i>Laminaria japonica</i>	Kombu	Rich in L-fucose and sulfated ester groups.
<i>Saccharina latissima</i>	Sugar Kelp	Increasing interest due to sustainable aquaculture potential.
<i>Cladosiphon okamuranus</i>	Mozuku	Known for yielding high-molecular-weight fucoidan.

Table 1: Fucoidan-Producing Brown Seaweed Species and Their Key Characteristics

Since, fucoidan is a complex sulfated polysaccharide mainly composed of fucose sugars with sulfate ester groups. Its exact structure shows difference greatly depending on the seaweed source and extraction method (Van Weelden et al., 2019). Generally, fucoidans consist of an α -L-fucopyranose backbone that can be arranged in two primary forms: type I (mainly 1→3 linkages) or type II (alternating 1→3 and 1→4 linkages) (Van Weelden et al., 2019). The fucose backbone is often branched with other monosaccharides (e.g. galactose, xylose, uronic acids) and the degree and pattern of sulfation differ by species). For example, **Fucus vesiculosus** fucoidan has a relatively simple structure with primarily 1→3 and 1→4 linked fucose and sulfates at C-2 (and C-3) positions. In contrast, fucoidan from *Macrocystis pyrifera* contains significant galactose and xylose branching. Factors like the harvest season and extraction/purification process further influence fucoidan's molecular composition. This heterogeneity is important because structural features (sulfate content and molecular weight) correlate with bioactivity. Fucoidan is often categorized by molecular weight: low (<10 kDa), medium (10–10,000 kDa) and high (>10,000 kDa). **High-molecular-weight** fucoidans generally show greater anticancer and anti-angiogenic effects in vitro, whereas some low-

molecular-weight fractions have enhanced absorption and distinct bioactivities. For instance, low-MW fucoidan (<10 kDa) can induce apoptosis in breast cancer cells and inhibit angiogenesis via the HIF-1 α /VEGF pathway in bladder cancer. However, overly degrading fucoidan can reduce its activity, as sulfation and branching patterns are key to its function. In summary, *fucoidan's structure–activity relationships* are complex: the sulfate groups and polymer size are critical determinants of its biological effects. This diversity underscores the need to use well-characterized fucoidan preparations in research and therapy (Figure 1A-B).

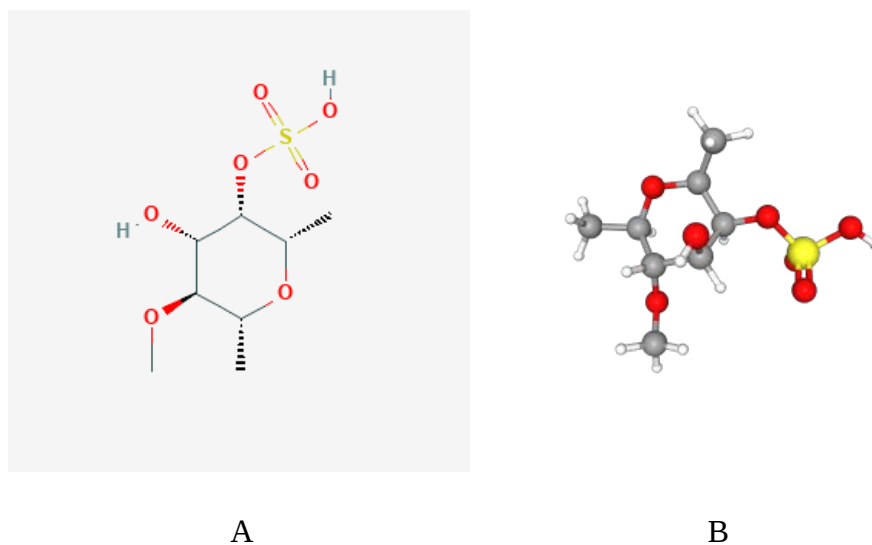


Figure 1: A) 2D B) 3D structures of fucoidan (PubChem n.d)

3- Anticancer Mechanisms of Furoidan

Fucoidan (a sulfated polysaccharide derived from brown algae) has been shown to exert multiple anticancer mechanisms that may complement conventional chemotherapy. These mechanisms include direct cytotoxicity, inhibition of metastasis and angiogenesis, as well as modulation of the immune response (Jin et al., 2021; Lin et al., 2020).

3.1 Direct Cytotoxic Effects

- **Apoptosis induction:** Fucoidan induces apoptosis via both intrinsic (mitochondrial) and extrinsic (death receptor-mediated) pathways. It enhances pro-apoptotic markers such as Bax, activates caspases (e.g., caspase-3 and -9) and promotes PARP cleavage,

leading to programmed cell death in various cancer cell types (Jin et al., 2021; Hsu et al., 2017).

- **Cell cycle arrest:** Fucoidan has been shown to induce cell cycle arrest at G0/G1 or G2/M phases in several cancer cell lines, including breast, colon and cholangiocarcinoma cells. This is often associated with downregulation of cyclins and CDKs and upregulation of cell cycle inhibitors such as p21 (Chantree et al., 2021; Liu et al., 2016).
- **Synergy with chemotherapy:** Studies have indicated that fucoidan enhances the efficacy of chemotherapeutic agents such as doxorubicin paclitaxel and cisplatin by promoting apoptosis and amplifying cell cycle disruption (Arumugam et al., 2019).

3.2 Anti-Metastatic Properties

- **Inhibition of migration and invasion:** Fucoidan suppresses cancer cell migration and invasion by downregulating matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) and cell adhesion molecules, which are critical for extracellular matrix degradation and metastasis (Cao et al., 2021).
- **Suppression of epithelial-mesenchymal transition (EMT):** Fucoidan reduces the expression of EMT markers such as N-cadherin, Snail and vimentin, thereby inhibiting the mesenchymal-like phenotype associated with metastasis (Lin et al., 2020).
- **Anti-angiogenic activity:** Fucoidan interferes with angiogenesis by inhibiting vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and disrupting VEGFR signaling pathways in both tumor and endothelial cells, which restricts tumor vascularization (Turrini et al., 2023).

3.3 Immunomodulatory Effects

- **Macrophage and NK cell activation:** Fucoidan enhances innate immune responses by promoting M1 macrophage polarization and increasing natural killer (NK) cell cytotoxicity. This may contribute to tumor clearance via immune-mediated mechanisms (Jin et al., 2021).
- **Cytokine regulation:** Fucoidan modulates cytokine secretion, including TNF- α , IL-6 and IL-10, suggesting that it can both stimulate antitumor immunity and reduce immunosuppressive tumor microenvironments (Hsu & Hwang, 2019).

3.4 Anti-Angiogenic Activity

- **VEGF inhibition:** Fucoidan inhibits VEGF expression and secretion in cancer and stromal cells, reducing angiogenic signaling critical for tumor growth (Liu et al., 2016).
- **Endothelial cell effects:** It also suppresses endothelial cell proliferation, migration and capillary-like tube formation, further impeding neovascularization within tumors (Hsu & Hwang, 2019).

4- Synergistic Efficacy of Fucoidan with Conventional Chemotherapeutics on Breast Cancer

Standard chemotherapeutic protocols for breast cancer face major challenges, primarily due to resistance mechanisms (multi drug resistance, MDR) and systemic toxicity. Integrating bioactive marine polysaccharides into these regimens presents a promising avenue to overcome such hurdles. In this context, fucoidan has emerged as a promising adjuvant agent, demonstrating the ability to sensitize cancer cells to standard treatment regimens while potentially mitigating adverse effects.

4.1. Doxorubicin studies

The synergistic potential of fucoidan combined with doxorubicin (DOX) has been extensively evaluated across diverse breast cancer models, including MCF-7, MDA-MB-231, 4T1, and drug-resistant triple-negative phenotypes. Investigations focusing on cytotoxicity and targeted delivery consistently demonstrate that fucoidan cotreatment potentiates apoptotic cell death and enhances the tumor-specific accumulation of DOX, offering superior therapeutic outcomes compared to monotherapy (Abudabbus et al., 2017; Pawar et al., 2019; Jafari et al., 2020; Zhang et al., 2021)

4.2. Cisplatin studies

Several breast cancer studies have assessed fucoidan in combination with cisplatin in vitro or in animal models, measuring cell viability, apoptosis, chemosensitization and tumor targeting. These investigations report that fucoidan plus cisplatin enhances cisplatin-induced cytotoxicity and apoptosis while improving selective targeting of cancer cells compared with cisplatin alone (Abudabbus et al., 2017; Jin et al., 2021; Zhang et al., 2021).

4.3. Paclitaxel studies

Investigations into paclitaxel (PTX) and fucoidan combinations have spanned from direct co-administration in vitro to advanced engineered nanoplatforms. These strategies consistently yield synergistic outcomes, driven by potentiated apoptosis and superior drug accumulation at the tumor site; effects largely mediated by fucoidan's targeting affinity and immunomodulatory profile (Burney et al., 2018; Pawar et al., 2019). Significantly, recent work utilizing fucoidan/Pluronic® F127 nanogels established a pH-responsive delivery system; this approach exploited the acidic tumor microenvironment to maximize therapeutic efficacy while simultaneously attenuating systemic toxicity (Nguyen et al., 2024). These findings underscore fucoidan's dual utility as both a biological chemosensitizer and a functional excipient for precision PTX delivery.

5. Fucoidan in Combination with Docetaxel and Trastuzumab in MCF-7 and MDA-MB-231 Cells

To explore the potential of fucoidan as an adjunct anticancer agent, a series of in vitro experiments were conducted to examine its effects in combination with two clinically relevant therapies: docetaxel, a microtubule-stabilizing chemotherapeutic agent, and trastuzumab, a monoclonal antibody that targets HER2-overexpressing cells (Aygüneş, 2014). Such therapies were chosen for their distinct mechanisms of action, which are representative of standard approaches in breast cancer treatment.

Three human breast-derived cell lines were employed to capture the molecular heterogeneity of breast cancer. MCF-7 cells, classified as luminal A subtype, are estrogen receptor (ER)-positive and HER2-normal, representing a hormone-responsive, less aggressive phenotype. MDA-MB-231 cells correspond to the triple-negative breast cancer (TNBC) subtype (ER-, PR-, HER2-negative), known for their invasive and treatment-resistant behavior. The non-tumorigenic mammary epithelial cell line MCF-10A served as a control to assess cytotoxic selectivity and evaluate potential off-target effects in non-malignant cells. This experimental design enabled the comparison of fucoidan's activity across different breast cancer subtypes and provided insights into its differential effects on malignant versus normal breast epithelial cells. The following section details the methodology, experimental findings, and interpretations regarding the observed interactions between fucoidan and the selected therapeutic agents.

5.1. Cytotoxicity Profile

In this study, the effects of fucoidan-containing binary and triple combinations with docetaxel and trastuzumab were comparatively evaluated in breast cancer cell lines (MCF-7 and MDA-MB-231) and the non-tumorigenic mammary epithelial cell line MCF-10A. The findings indicate that fucoidan acts as a context-dependent modulator of cytotoxic response.

In both MCF-7 and MDA-MB-231 cells, fucoidan alone and/or combinations consistently reduced cell viability. Binary combinations of fucoidan with docetaxel or trastuzumab exhibited dose-dependent cytotoxic effects, suggesting that fucoidan enhances the efficacy of both chemotherapeutic and targeted agents in cancer cells. In MCF-7 cells, fucoidan showed synergistic interactions with both agents, while triple combinations produced cytotoxic effects comparable to, but not exceeding, those observed with fucoidan-containing binary treatments.

In MDA-MB-231 cells, fucoidan-containing combinations demonstrated a more pronounced and consistent cytotoxic profile. Notably, the fucoidan-trastuzumab combination displayed maximal efficacy at IC₅₀-level doses. Triple combinations maintained the cytotoxic contribution of fucoidan, although their effectiveness was not uniformly superior to that of fucoidan-based binary combinations.

In contrast, in MCF-10A cells, fucoidan-containing combinations induced only moderate reductions in cell viability, without a clear dose-dependent pattern. Triple combinations did not further enhance cytotoxicity compared to binary treatments (Aygüneş, 2014).

Overall, these results demonstrate that fucoidan selectively enhances cytotoxic responses in breast cancer cell lines while exerting limited and irregular effects on non-tumorigenic cells. This profile supports the potential role of fucoidan as a modulatory agent that improves the therapeutic impact of combination treatments in a cancer cell specific manner.

5.2. Apoptosis Profile

A comprehensive apoptotic profiling was performed to delineate the effects of fucoidan-containing mono, binary and triple treatments in breast cancer cell lines (MCF-7 and MDA-MB-231), with the non-tumorigenic mammary epithelial cell line MCF-10A serving as a reference. Apoptosis was assessed using complementary assays targeting distinct cellular compartments and stages of the apoptotic cascade, enabling an integrated evaluation of apoptotic signaling.

Across both cancer cell lines, fucoidan consistently emerged as the dominant contributor to apoptotic induction. While Annexin-V analysis revealed only modest and statistically non-significant differences between cancerous and non-cancerous cells, a clear trend toward increased apoptotic fractions was observed in fucoidan-treated and fucoidan-containing combination groups, particularly in MCF-7 cells. These findings suggest that early apoptotic events alone may underestimate the full apoptotic impact of fucoidan.

In contrast, MitoCapture analysis uncovered a pronounced and cell line-specific apoptotic response. Fucoidan monotherapy and fucoidan-based combinations induced robust mitochondrial depolarization in MCF-7 cells, significantly exceeding that observed in MDA-MB-231 cells. This divergence highlights a stronger engagement of mitochondrial apoptotic pathways in hormone-responsive breast cancer cells. Importantly, fucoidan-containing treatments consistently differentiated cancer cells from MCF-10A, underscoring a degree of tumor selectivity at the mitochondrial level.

Caspase-2 activation further reinforced the central role of fucoidan in apoptotic modulation. Fucoidan-trastuzumab combinations produced the most prominent and statistically significant increases in caspase-2 activity in both MCF-7 and MDA-MB-231 cells when compared with MCF-10A. These findings position caspase-2 as a sensitive downstream readout of fucoidan-driven apoptotic stress, particularly in combination settings.

In contrast, caspase-3 activation displayed a more diffuse pattern. Although cancer cells generally exhibited higher caspase-3 activity than MCF-10A, differences did not reach statistical significance. Nevertheless, MCF-7 cells consistently showed higher caspase-3 activation than MDA-MB-231 across most treatment groups, suggesting a more efficient execution-phase apoptotic response in this cell line.

Caspase-8 activation was comparatively limited, indicating that extrinsic apoptotic signaling played a secondary role in the observed cytotoxic response. The absence of strong caspase-8 activation further supports the predominance of intrinsic, mitochondria-centered apoptotic mechanisms in fucoidan-mediated effects (Aygüneş, 2014).

Taken together, these findings define a distinct apoptotic signature for fucoidan-containing treatments, characterized by preferential activation of mitochondrial dysfunction and caspase-2 signaling, with variable engagement of downstream executioner caspases. This signature is more pronounced in cancer cells than in non-tumorigenic epithelial cells and differs between

breast cancer subtypes, positioning fucoidan as a potent and selective amplifier of intrinsic apoptotic pathways in breast cancer models.

5.3. Gene Expression Signatures

Gene expression analyses revealed that fucoidan induces a robust and coordinated transcriptional response in breast cancer cell lines, with markedly different profiles compared to non-tumorigenic mammary epithelial cells.

In MCF-7 cells, fucoidan treatment resulted in a pronounced upregulation of apoptosis-related genes, including *APAF1*, *BAD*, *BAX*, *CASP2*, *CASP3*, *CASP8*, *CASP9*, *CD27*, *CDKN1A*, *PTEN*, *SFN*, *TGFB1*, *TP53* and *TP73* ($p < 0.05$ for all). Notably, *BAX*, *CD27* and *CDKN1A* were consistently upregulated across all treatment groups, indicating a central role in fucoidan-driven apoptotic signaling. In parallel, genes associated with genomic stability, tumor suppression and breast cancer prognosis (*BRCA1*, *BRCA2*, *CDKN1C*, *CDKN2A*, *CTNNB1*, *MGMT* and *RB1*) exhibited significant expression increases, suggesting reinforcement of anti-proliferative and DNA damage response pathways.

In MDA-MB-231 cells, fucoidan also promoted apoptotic gene expression, albeit with a more heterogeneous pattern. Significant upregulation was observed in *APAF1*, *BAD*, *BAX*, *CASP2*, *CASP3*, *CASP8*, *CASP9*, *CD27*, *CDKN1A*, *SFN*, *TGFB1* and *TP53* ($p < 0.05$), accompanied by a significant downregulation of *MAPK1*. Furthermore, fucoidan expanded expression of key tumor-related genes (*APC*, *ATM*, *BRCA2*, *CDH1*, *CDKN1C*, *CDKN2A*, *MGMT* and *RB1*), while suppressing proliferation-associated genes such as *CCND1* and *JUN*. This expression profile is consistent with attenuation of proliferative signaling and activation of tumor-suppressive programs in triple-negative breast cancer cells.

In contrast, gene expression responses in the non-tumorigenic MCF-10A cell line were highly variable and lacked the coordinated, directionally consistent patterns observed in cancer cells. This divergence underscores a degree of tumor selective transcriptional modulation by fucoidan (Aygüneş, 2014).

Collectively, these data demonstrate that fucoidan orchestrates a cancer cell-specific gene expression program characterized by simultaneous activation of apoptotic machinery, reinforcement of tumor suppressor pathways and suppression of proliferative signals. The distinct transcriptional signatures observed in MCF-7 and MDA-MB-231 cells highlight

subtype dependent responses, supporting fucoidan's role as a context dependent modulator of anticancer signaling networks.

5.4. Integrated Interpretation of Findings

Taken together, the cytotoxicity, apoptosis and gene expression data converge on a coherent biological narrative in which fucoidan functions as a central modulator of anticancer responses in breast cancer cell lines. Rather than acting as a purely cytotoxic agent, fucoidan appears to reshape cellular fate decisions by simultaneously influencing cell viability, apoptotic signaling and transcriptional programs associated with tumor suppression and proliferation control.

At the phenotypic level, cytotoxicity assays demonstrated that fucoidan-containing treatments preferentially reduced cell viability in cancer cells while exerting comparatively limited effects on non-tumorigenic mammary epithelial cells. This selective profile was reinforced by apoptosis assays, which revealed that fucoidan-driven effects were not dominated by early apoptotic markers alone but became more pronounced at the level of mitochondrial dysfunction and caspase-mediated signaling. In particular, the prominence of mitochondrial depolarization and caspase-2 activation suggests engagement of intrinsic stress-responsive apoptotic pathways rather than nonspecific cell death.

Gene expression analyses provide a mechanistic framework supporting these observations. In both MCF-7 and MDA-MB-231 cells, fucoidan induced coordinated upregulation of genes involved in apoptotic execution, cell cycle regulation and tumor suppression, accompanied by suppression of key proliferative drivers in the more aggressive MDA-MB-231 model. The consistency of these transcriptional shifts across functional categories indicates that the observed cytotoxic and apoptotic effects are underpinned by structured, pathway-level regulation rather than isolated gene perturbations.

Significantly, the nature of the response differed between breast cancer subtypes. MCF-7 cells displayed a more uniform and amplified activation of apoptotic and tumor suppressor gene networks, consistent with a transcriptionally permissive, hormone-responsive phenotype. In contrast, MDA-MB-231 cells exhibited a more selective pattern characterized by concurrent activation of apoptotic programs and repression of proliferation-associated signaling, reflecting adaptation within a more aggressive and intrinsically resistant cellular context. Despite these differences fucoidan emerged as a shared driver of anti-tumor signaling in both models.

In contrast, the absence of a coordinated transcriptional or apoptotic signature in MCF-10A cells highlights a fundamental distinction between cancerous and non-cancerous cellular responses. The variability observed in normal epithelial cells suggests that fucoidan does not impose a dominant pro-apoptotic program in the absence of oncogenic stress, supporting a degree of cancer cell specificity.

Overall, the integrated findings position fucoidan as a context-dependent regulator that amplifies intrinsic vulnerabilities of breast cancer cells by aligning cytotoxic stress, apoptotic signaling and gene expression reprogramming. This multi-layered mode of action distinguishes fucoidan from conventional single-target agents and provides a biologically coherent basis for its inclusion in combination-based therapeutic strategies within breast cancer models.

5.5. Contextual Implications of the Present Findings

Despite the growing body of literature describing the anticancer properties of fucoidan, several critical gaps remain in the context of breast cancer biology. Most existing studies focus on single-endpoint readouts, such as cell viability or isolated apoptotic markers and are frequently limited to a single cell line or treatment condition. As a result, the relationship between cytotoxic effects, apoptotic execution and transcriptional regulation has remained largely fragmented.

The data presented in this section directly address this gap by providing a multi-layered evaluation of fucoidan activity across distinct breast cancer subtypes. By integrating cytotoxicity assays with complementary apoptosis methodologies and gene expression analyses, this work establishes a coherent link between phenotypic outcomes and underlying transcriptional responses. This integrated approach moves beyond descriptive observations and demonstrates that fucoidan-induced cytotoxicity is accompanied by coordinated activation of apoptotic and tumor suppressive gene networks.

Another limitation in the existing literature is the insufficient comparison between cancerous and non-tumorigenic breast epithelial cells under identical experimental conditions. Many prior reports infer selectivity indirectly or do not include appropriate normal cell controls. The inclusion of MCF-10A cells in parallel with MCF-7 and MDA-MB-231 models provides direct evidence that fucoidan elicits structured and coordinated responses primarily in malignant cells, while inducing variable and non-convergent effects in non-cancerous cells. This distinction strengthens claims of context-dependent activity that are often suggested but rarely demonstrated experimentally.

Furthermore, studies examining fucoidan in combination settings frequently emphasize enhanced cytotoxicity without resolving whether such effects reflect nonspecific toxicity or regulated cellular responses. By coupling apoptosis profiling with gene expression signatures, the present data clarify that fucoidan-associated effects are linked to regulated apoptotic programs rather than passive cell damage. This contributes mechanistic resolution to an area of the literature that has largely relied on endpoint-based synergy claims.

Within the framework of this chapter, these findings fill an important conceptual gap by positioning fucoidan not merely as an anti-proliferative compound but as a regulator of cellular stress responsiveness and apoptotic competence in breast cancer cells.

This work provides experimentally grounded context for subsequent discussions on fucoidan-based combination strategies and their potential relevance to subtype-specific therapeutic modulation.

6. Future Directions

The findings presented in this section provide a foundation for several focused lines of future investigation. First, the coordinated cytotoxic, apoptotic and transcriptional responses observed in distinct breast cancer subtypes warrant further exploration under dynamic treatment conditions, including time-dependent analyses and dose optimization within combination settings. Such approaches may clarify the temporal hierarchy between transcriptional reprogramming and apoptotic execution.

Second, the distinct subtype-specific differences observed between MCF-7 and MDA-MB-231 cells emphasize the importance of conducting broader comparative studies across a wider range of breast cancer models. Extending this framework to include therapy-resistant or genetically defined subtypes may further refine the context-dependent role of fucoidan.

Finally, while the present work emphasizes regulated cellular responses, future studies integrating pathway-level inhibition or genetic perturbation strategies could help delineate the upstream regulators governing fucoidan-associated signaling networks. Within the scope of this chapter, these proposed directions should be viewed as logical extensions of the current findings rather than as immediate translational implications.

Referances:

Abudabbus, A., Badmus, J. A., Shalaweh, S., Bauer, R., & Hiss, D. (2017). Effects of fucoidan and chemotherapeutic agent combinations on malignant and non-malignant breast cell lines. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 18(9), 748–757. <https://doi.org/10.2174/1389201018666171115115112>

Arumugam, P., Arunkumar, K., Sivakumar, L., Murugan, M., & Murugan, K. (2019). Anticancer effect of fucoidan on cell proliferation, cell cycle progression, genetic damage and apoptotic cell death in HepG2 cancer cells. *Toxicology Reports*, 6, 556–563. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.06.005>

Aygüneş, D. D. (2014). *Meme kanseri hücre hatlarında trastuzumab, dosetaksel ve fukoidanın tek ajan ve kombine ajanlar olarak kullanılmasının apoptoz ve hücre toksisitesine etkisi* (Doctoral dissertation). Ege University, İzmir, Turkey.

Burney, M., Mathew, L., Gaikwad, A., Nugent, E. K., Gonzalez, A. O., & Smith, J. A. (2018). Evaluation of fucoidan extracts from *Undaria pinnatifida* and *Fucus vesiculosus* in combination with anticancer drugs in human cancer orthotopic mouse models. *Integrative Cancer Therapies*, 17(3), 755–761. <https://doi.org/10.1177/1534735417740631>

Cao, L. M., Sun, Z. X., Makale, E. C., Du, G. K., Long, W. F., & Huang, H. R. (2021). Antitumor activity of fucoidan: A systematic review and meta-analysis. *Translational Cancer Research*, 10(12), 5390–5405. <https://doi.org/10.21037/tcr-21-1733>

Chantree, P., Na-Bangchang, K., & Martviset, P. (2021). Anticancer activity of fucoidan via apoptosis and cell cycle arrest on cholangiocarcinoma cell. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 22(1), 209–217. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2021.22.1.209>

Dombernowsky, P., Gehl, J., Boesgaard, M., Paaske, T., & Jensen, B. V. (1996). Doxorubicin and paclitaxel, a highly active combination in the treatment of metastatic breast cancer. *Seminars in Oncology*, 23(5, Suppl. 11), 23–27. PMID: 8893895.

Hsu, H. Y., Lin, T. Y., Lu, M. K., Huang, Y. C., & Yang, W. C. (2017). Fucoidan induces Toll-like receptor 4-regulated reactive oxygen species and promotes endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis in lung cancer. *Scientific Reports*, 7, 44990. <https://doi.org/10.1038/srep44990>

Hsu, H.-Y., & Hwang, P.-A. (2019). Clinical applications of fucoidan in translational medicine for adjuvant cancer therapy. *Clinical and Translational Medicine*, 8(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s40169-019-0234-9>

Jafari, M., Sriram, V., Xu, Z., Harris, G. M., & Lee, J. Y. (2020). Fucoidan–doxorubicin nanoparticles targeting P-selectin for effective breast cancer therapy. *Carbohydrate Polymers*, 249, 116837. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116837>

Jin, J.-O., Chauhan, P. S., Arukha, A. P., Chavda, V., Dubey, A., & Yadav, D. (2021). The therapeutic potential of the anticancer activity of fucoidan: Current advances and hurdles. *Marine Drugs*, 19(5), 265. <https://doi.org/10.3390/md19050265>

Kannan, K., Srinivasan, A., Kannan, A., & Ali, N. (2025). The underlying mechanisms and emerging strategies to overcome resistance in breast cancer. *Cancers*, 17(17), 2938. <https://doi.org/10.3390/cancers17172938>

Lin, Y., Qi, X., Liu, H., Duan, Y., Zhang, Q., & Fu, X. (2020). The anti-cancer effects of fucoidan: A review of both in vivo and in vitro investigations. *Cancer Cell International*, 20, 154. <https://doi.org/10.1186/s12935-020-01233-8>

Liu, F., Luo, G., Xiao, Q., Chen, L., Luo, X., Lv, J., & Chen, L. (2016). Fucoidan inhibits angiogenesis induced by multiple myeloma cells. *Oncology Reports*, 36(4), 1963–1972. <https://doi.org/10.3892/or.2016.4987>

Lu J, Shi KK, Chen S, Wang J, Hassouna A, White LN, Merien F, Xie M, Kong Q, Li J, Ying T, White WL, Nie S. Fucoidan Extracted from the New Zealand *Undaria pinnatifida*- Physicochemical Comparison against Five Other Fucoidans: Unique Low Molecular Weight Fraction Bioactivity in Breast Cancer Cell Lines. *Mar Drugs*. 2018 Nov 22;16(12):461. doi: 10.3390/md16120461.

Memorial Sloan Kettering Cancer Center. (2022). *Fucoidan — Purported benefits, side effects & more*. <https://www.mskcc.org/cancer-care/integrative-medicine/herbs/fucoidan>

Nguyen, N. T., Nguyen, V. T., Vu, T. T., Tran, H. T., Pham, T. H., & Le, T. H. (2024). Efficient and controllable co-delivery of paclitaxel and curcumin from fucoidan–Pluronic F127 nanogel for synergistic breast cancer treatment. *Macromolecular Research*, 32, 427–442. <https://doi.org/10.1007/s13233-023-00240-8>

Pawar, V. K., Singh, Y., Sharma, K., Shrivastav, A., Sharma, A., Singh, A., Meher, J. G., Singh, P., Raval, K., Kumar, A., Bora, H. K., Datta, D., Lal, J., & Chourasia, M. K. (2019). Improved chemotherapy against breast cancer through immunotherapeutic activity of fucoidan-decorated electrostatically assembled nanoparticles bearing doxorubicin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 122, 1100–1114. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.059>

PubChem. (n.d.). Fucoidan (Compound CID 129532628). National Center for Biotechnology Information. Retrieved December 18, 2025, from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/129532628#section=3D-Conformer>

Saeed, M., Arain, M. A., Fazlani, S. A., Marghazani, I. B., Umar, M., Soomro, J., Bhutto, Z. A., Soomro, F., Noreldin, A. E., Abd El-Hack, M. E., Elnesr, S. S., Farag, M. R., Dhama, K., Chao, S., & Alagawany, M. (2021). A comprehensive review on the health benefits and nutritional significance of fucoidan polysaccharide derived from brown seaweeds in human, animals and aquatic organisms. *Aquaculture Nutrition*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1111/anu.13233>

Turrini, E., Maffei, F., & Fimognari, C. (2023). Ten years of research on fucoidan and cancer: Focus on its antiangiogenic and antimetastatic effects. *Marine Drugs*, 21(5), 307. <https://doi.org/10.3390/md21050307>

Van Weelden, G., Bobiński, M., Okła, K., Van Weelden, W. J., Romano, A., & Pijnenborg, J. M. A. (2019). Fucoidan structure and activity in relation to anti-cancer mechanisms. *Marine Drugs*, 17(1), 32. <https://doi.org/10.3390/md17010032>

Vetvicka, V., & Vetvickova, J. (2017). Fucoidans stimulate immune reaction and suppress cancer growth. *Anticancer Research*, 37(11), 6041–6046. <https://doi.org/10.21873/anticancer.12051>

Zhang, N., Xue, M., Wang, Q., Liang, H., Yang, J., Pei, Z., & Qin, K. (2021). Inhibition of fucoidan on breast cancer cells and potential enhancement of their sensitivity to chemotherapy by regulating autophagy. *Phytotherapy Research*, 35(12), 6904–6917. <https://doi.org/10.1002/ptr.7303>

BEYOND BRCA: THE DNA DAMAGE RESPONSE NETWORK AND ITS CLINICAL IMPLICATIONS IN BREAST CANCER

Duygu AYGÜNEŞ JAFARI¹

1. Introduction: The “BRCA Era”: From Single Genes to Complex Networks

The discovery of the *BRCA1* and *BRCA2* genes in the 1990s made a reform in our understanding of hereditary breast cancer, marking the beginning of the “BRCA era” in cancer genetics. These significant findings showed that inherited mutations in *BRCA1/2* present a dramatically increased breast and ovarian cancer risk, launching the field of clinical cancer genetics and leading to genetic testing and designed risk-reduction strategies for carriers. In breast cancer, *BRCA1/2* mutations are relatively rare but highly penetrant, large population studies indicate that pathogenic variants in *BRCA1* or *BRCA2* occur in roughly 2-3% of unselected breast cancer patients (with higher frequencies in certain subgroups, such as about 11% of triple-negative breast cancers) (Zhou & Zhang, 2025). These mutations have significant impact, for example women with germline *BRCA1/2* mutations face lifetime breast cancer risks on the order of 50-70%, far above the general population risk (Hu et al., 2021). The “BRCA-centric” paradigm that followed has been enormously influential, *BRCA1/2* became synonymous with hereditary breast cancer and research and clinical practice for two decades focused heavily on these high-risk genes.

However, the BRCA-centric understanding has clear boundaries and limitations. First, *BRCA1/2* mutations explain only a fraction of the hereditary risk for breast cancer; epidemiologic analyses show that germline *BRCA1/2* variants account for roughly 20-25% of familial breast cancer cases, leaving many families with strong cancer histories unexplained (Hu et al., 2021). Besides, beyond the realm of germline risk, the “BRCAness” concept has emerged to describe sporadic tumors that phenocopy *BRCA*-mutant cancers (exhibiting homologous recombination DNA repair defects) despite lacking *BRCA* mutations (Lord & Ashworth, 2016). A significant subset of breast tumors without *BRCA* mutations show molecular signs of homologous recombination deficiency (HRD), indicating other genes in the DNA repair network can be disrupted. Also, focusing narrowly on *BRCA1/2* misses opportunities for precision therapy in patients whose tumors exhibit distinct deficiencies in DNA damage response mechanisms. The success of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitors in *BRCA*-mutated cancers opened the door to targeting DNA

¹ Dr., Ege University Faculty of Medicine Department of Medical Biology, ORCID: 0000-0003-4756-7365

repair vulnerabilities, but it also highlighted that such synthetic-lethal strategies might extend to *BRCA*-wildtype tumors with “*BRCA*-like” deficits. Consequently, there is a growing recognition that the DNA damage response (DDR) network beyond just *BRCA1* and *BRCA2* and it is crucial in breast cancer biology and therapy. This new approach represents a transition from a single-gene focus to a broader view of genomic instability and repair pathways in cancer.

The following sections provide an overview of the DDR network and explore its expanding clinical implications in breast cancer, charting a path **beyond BRCA**.

2. Overview of the DNA Damage Response Network.

Cells constantly encounter DNA damage from endogenous sources like reactive oxygen species and exogenous agents such as UV radiation and carcinogens. To counteract this threat, cells have evolved a **DNA damage response (DDR)** network (a coordinated system of sensors, signaling molecules and repair enzymes) that detects DNA lesions, halts the cell cycle and orchestrates appropriate repair mechanisms (Patel et al., 2024). Key DDR pathways include (Figure 1):

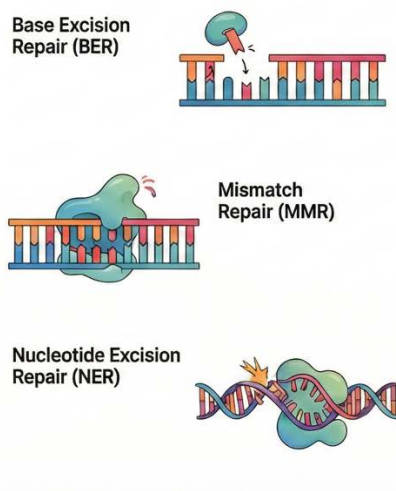
- **Base Excision Repair (BER):** fixes single-base abnormalities (such as deamination or oxidation damage) and single-strand breaks. DNA glycosylases remove damaged bases and the resulting a basic sites or nicks are processed and filled by DNA polymerase and ligase. This pathway is critical for repairing endogenous damage and operates throughout the cell cycle.
- **Mismatch Repair (MMR):** corrects base-base mismatches, insertion and deletion loops ascending during DNA replication. Proteins like MSH2/MSH6 and MLH1/PMS2 detect and remove replication errors, ensuring accurate genome duplication. Deficiencies in the mismatch repair (MMR) system result in microsatellite instability and the emergence of a hypermutator phenotype, characteristic of Lynch syndrome associated cancers.
- **Nucleotide Excision Repair (NER):** responsible for the removal of bulky, helix-distorting DNA lesions; such as UV-induced pyrimidine dimers and chemical adducts, through the coordinated action of multiprotein complexes that excise the damaged oligonucleotide segment, followed by gap filling by DNA polymerase. NER maintains genomic stability against a broad range of DNA lesions.
- **Fanconi Anemia Pathway (FA/ICL Repair):** specializes in repairing DNA interstrand crosslinks,covalent links between both strands of DNA, which block replication and transcription. The FA pathway (involving FANCA, FANCD2, FANCI and others) coordinates nucleolytic incision of crosslinks and subsequent repair via homologous recombination. Germline mutations in FA genes (including *BRCA2*, also known as *FANCD1*) cause the cancer susceptibility situation Fanconi anemia, underlining the pathway’s importance.
- **Non-Homologous End Joining (NHEJ):** a rapid yet error-prone mechanism that repairs DNA double-strand breaks (DSBs) by directly joining the broken DNA ends. NHEJ can operate throughout the cell cycle and is the dominant DSB repair mode in G1 phase. The

process entails the interaction of the Ku70/Ku80 complex with the termini of DNA, the subsequent recruitment of DNA-dependent protein kinase catalytic subunits (DNA-PKcs) along with end-processing enzymes, ultimately resulting in the ligation of DNA strands. NHEJ often yields small insertions and deletions at the break site, which if they are mis-repaired, it can lead to mutations.

- **Homologous Recombination (HR):** a high-fidelity DSB repair pathway active in S and G2 phases (when a sister chromatid is available as a template). HR is initiated by end resection at the DSB (mediated by the MRN complex and CtIP, activated by ATM kinase) and followed by coating of single-stranded DNA with RAD51 recombinase (that facilitated by BRCA1, BRCA2, PALB2 and other HR proteins) to invade an intact sister chromatid and copy the missing sequence (Patel et al., 2024). HR accurately restores the DNA sequence and is critical for repairing replication-associated breaks and interstrand crosslinks (Figure 1).

DNA's Damage Control: A Guide to Cellular Repair Pathways

Single-Strand & Base-Level Repair



Complex & Double-Strand Repair

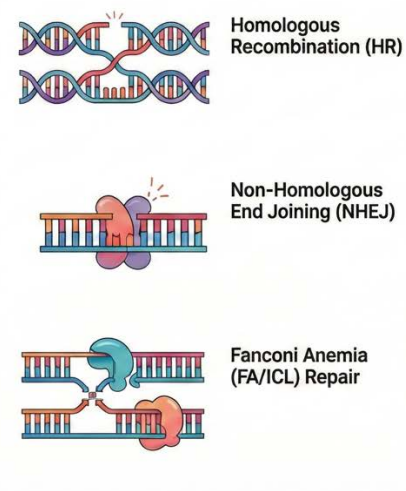


Figure 1: Overview of Key DNA Damage Response (DDR) Pathways. The figure categorizes primary repair mechanisms based on the type of DNA damage. Single-Strand & Base-Level Repair pathways include Base Excision Repair (BER) for small base lesions, Mismatch Repair (MMR) for replication errors, and Nucleotide Excision Repair (NER) for bulky, helix-distorting damage. Complex & Double-Strand Repair pathways address more severe breaks: Homologous Recombination (HR) provides high-fidelity repair using a template; Non-Homologous End Joining (NHEJ) rapidly ligates broken ends; and the Fanconi Anemia (FA) pathway specifically resolves toxic interstrand crosslinks (ICLs).

The DDR network not only repairs damage but also tightly interfaces with cell cycle checkpoints. When DNA damage is detected, checkpoint kinases such as ATM and ATR are activated to halt cell cycle progression; ATM primarily responds to DSBs, activating the p53-mediated G1 arrest and the CHK2 kinase, whereas ATR responds to replication stress and single-stranded DNA, activating the CHK1 kinase and an intra-S/G2 arrest (Patel et al., 2024).

Through these checkpoints, the DDR prevents cells from dividing before lesions are fixed, to maintain the genomic stability. **Genome stability preservation** is a central mission of the DDR: by correcting mutations or preventing their propagation, the DDR suppresses tumorigenesis. Germline defects in DDR genes (such as *BRCA1*, *TP53*, *ATM*) confer cancer susceptibility and sporadic tumors often bear somatic mutations in DDR components or signatures of past DNA repair failures. If DNA damage is irreparable, the DDR can trigger apoptosis or senescence to eliminate the damaged cell (another tumor-suppressive mechanism).

The elucidation of the DDR network has crystallized the therapeutic principle of **synthetic lethality**. This term describes a possibility in which the simultaneous impairment of two genes or pathways is lethal to a cell, whereas a defect in either one alone is tolerated. The classic example is the synthetic lethal interaction between homologous recombination and the base excision repair pathway: cells with a *BRCA1/2*-mediated HR defect rely on PARP-dependent repair of single-strand DNA breaks, so inhibition of PARP1 causes an accumulation of unrepaired single-strand breaks that convert to lethal double-strand breaks in HR-deficient cells. Normal cells (with intact HR) can survive PARP inhibition by repairing DNA breaks via recombination, but HR-deficient tumor cells cannot, leading to selective cell death (Helleday, 2011; Patel et al., 2024). This concept was first exploited therapeutically with PARP inhibitor drugs in *BRCA*-mutated cancers and has since become a paradigm for targeting cancer-specific vulnerabilities in the DDR network.

In brief, the DNA damage response network encompasses a web of pathways guarding genome integrity and its selective perturbation in cancer cells presents opportunities for precision treatments based on synthetic lethality.

3. DDR Gene Alterations in Breast Cancer Beyond *BRCA1/2*

While *BRCA1* and *BRCA2* mutations are the most well-known hereditary drivers of breast cancer, many other genes in the DDR network can be altered in breast tumors; either through germline mutations that predispose to cancer or through somatic mutations in the tumor itself. These alterations can impair DNA repair mechanisms in a manner similar to *BRCA* mutations, thereby promoting tumorigenesis and shaping clinical outcomes. It is useful to distinguish **germline versus somatic** DDR gene mutations. **Germline mutations** (inherited variants present in every cell) in certain DDR genes confer an increased risk of developing breast cancer; examples include *ATM*, *CHEK2* and *PALB2*, which are now established as moderate-to-high penetrance breast cancer predisposition genes (Hu et al., 2021). **Somatic mutations** (acquired only in the tumor) in DDR genes are also frequently observed in breast cancers, especially in the context of genomic instability. For instance, The Cancer Genome Atlas (TCGA) data and other sequencing efforts have revealed that a subset of sporadic breast tumors harbors somatic loss-of-function mutations in genes like *TP53* (a DNA damage response mediator), *PIK3CA* (an oncogene indirectly affecting genome maintenance) and core HR genes such as *RAD51C* or *BRCA1* itself (epigenetically silenced or mutated somatically) (Štancl et al., 2022). Both germline and somatic

DDR gene alterations can induce a phenotype of homologous recombination deficiency and genomic instability, but germline carriers may have distinct clinical considerations (bilateral cancer risk, family implications) compared to sporadic cases with somatic mutations.

Several key DDR-related genes beyond *BRCA1/2* are now recognized for their roles in breast cancer predisposition or tumor biology (Table 1):

- **ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated):** *ATM* encodes a serine-threonine kinase that orchestrates the response to DNA double-strand breaks, activating checkpoints and DNA repair pathways. Heterozygous germline *ATM* mutations confer a moderate increase in breast cancer risk (odds ratio ~2) and are found in ~0.5-1% of breast cancer patients (making *ATM* one of the more common non-*BRCA* predisposition genes). Somatic *ATM* mutations or deletions occur in a subset of breast tumors as well. Notably, *ATM* mutations have been associated with predominantly estrogen receptor (ER)-positive breast cancers (in one large study, *ATM* variant carriers had almost a two-fold higher odds of ER-positive disease (OR ~1.96)) (Hu et al., 2021). Tumors with *ATM* loss may exhibit impaired checkpoint control and increased radiosensitivity.
- **CHEK2 (Checkpoint Kinase 2):** *CHEK2* is a downstream effector kinase of *ATM*; germline loss-of-function variants in *CHEK2* (such as the 1100delC allele) are established moderate-risk alleles for breast cancer (approximately 2-3 fold risk). *CHEK2* germline mutations are found in about 1% of breast cancer patients in Western populations. Like *ATM*, *CHEK2*-associated cancers are often ER-positive/HER2-negative. Pathogenic *CHEK2* variants showed a significant association with estrogen receptor-positive breast cancer (OR ~2.6) in the CARRIERS consortium study (Hu et al., 2021). Somatic *CHEK2* mutations are less common but when present, may indicate a deficient G1/S checkpoint. Clinically, *CHEK2* mutation carriers have a moderate risk that sometimes influences screening or preventive strategies and their tumors might have unique chemosensitivities (e.g. possibly greater sensitivity to DNA-damaging agents).
- **PALB2 (Partner and Localizer of BRCA2):** *PALB2* works closely with *BRCA2* in HR repair, helping recruit *BRCA2*/RAD51 to DNA breaks. Germline *PALB2* mutations confer a high risk of breast cancer; lifetime risk estimates for female *PALB2* mutation carriers' approach 50% by age 70, similar to *BRCA2* in some studies. Although individually rare (prevalence ~0.5% in unselected patients) (Hu et al., 2021), *PALB2* is one of the most penetrant genes after *BRCA1/2* and many guidelines now recommend *PALB2* testing alongside *BRCA1/2*. *PALB2*-mutated tumors often resemble *BRCA2*-associated cancers (frequently ER-positive, though *PALB2* is also seen in triple-negative cases) and are typically HR-deficient. In fact, *PALB2* mutations were associated with significantly increased risk of triple-negative breast cancer (OR ~13 in one study) (Hu et al., 2021) and with high histologic grade. Importantly, *PALB2* mutant cancers have shown sensitivity to platinum chemotherapy and PARP inhibitors, analogous to *BRCA*-mutant cancers.

- **RAD51C and RAD51D:** These genes encode proteins directly involved in homologous recombination; both are essential for RAD51 function in repairing DSBs. Germline *RAD51C* and *RAD51D* mutations are more commonly associated with ovarian cancer susceptibility, but they have also been implicated in breast cancer risk (especially *RAD51C*). Their prevalence in breast cancer is low (each <0.5%), but they are included in many multigene panels. Notably, *RAD51D* mutations showed a significant association with ER-negative and triple-negative breast cancers (OR ~3.9 for ER- disease in one report) (Hu et al., 2021). *RAD51C* can be inactivated by promoter methylation in sporadic tumors, leading to an HRD phenotype (Štancl et al., 2022). Functionally, loss of RAD51C/D compromises HR and thus may predict responsiveness to HR-targeted therapies.
- **BARD1:** *BARD1* (BRCA1-Associated RING Domain protein 1) forms a heterodimer with BRCA1 and is crucial for BRCA1's E3 ubiquitin ligase activity and DNA repair functions. Germline *BARD1* mutations are infrequent but have been associated with approximately two- to three-fold increased breast cancer risk (considered a moderate-risk gene). Interestingly, *BARD1* variants show strong association with triple-negative breast cancer; in the CARRIERS analysis, *BARD1* mutation carriers had over three-fold increased odds of triple-negative disease (OR ~3.18) (Hu et al., 2021). This aligns with the observation that BARD1, like BRCA1, is involved in HR repair and tends to give rise to basal-like tumors when mutated. In tumors, *BARD1* loss may phenocopy BRCA1 loss (since BARD1 is BRCA1's key partner), leading to HRD.
- **FANCA (Fanconi Anemia Complementation Group A):** *FANCA* is one of the core Fanconi anemia genes. Biallelic mutations in *FANCA* cause Fanconi anemia, but heterozygous mutations have been investigated for links to cancer risk. *FANCA* heterozygous variants are sometimes found in breast cancer patients, though a clear high-risk association is not established (if there is a risk, it is likely mild). Nevertheless, because the FA pathway intersects with BRCA pathways (the FA core complex ultimately activates FANCD2/I which collaborate with BRCA1/2 in HR repair), somatic loss of *FANCA* or other FA genes in tumors can contribute to HRD and genome instability. Some breast tumors, particularly triple-negative ones, harbor somatic deletions or promoter methylation of FA genes. Ongoing research is evaluating how FA pathway deficiencies might sensitize tumors to certain treatments (e.g. cisplatin).
- **ATR (Ataxia Telangiectasia and Rad3-related):** *ATR* is a master regulator of the response to replication stress. Germline *ATR* mutations are extremely rare (and usually incompatible with life in homozygous state; a mosaic *ATR* mutation causes Seckel syndrome). Somatic *ATR* mutations, still, have been observed in breast cancers (often at low frequency, ~1-2% (Patel et al., 2024)). Loss of ATR function in tumors leads to unchecked replication stress and chromosome breakage. Intriguingly, large sequencing studies have found *ATR* mutations to be among the more common non-BRCA DDR gene mutations in breast cancer, with one analysis reporting *ATR* mutations in up to ~3-4% of

cases (second only to ATM among DDR genes beyond BRCA) (Patel et al., 2024). *ATR*-mutant breast cancers could have therapeutic vulnerabilities (since ATR is essential for tolerating replication stress, ATR-deficient cells may be highly sensitive to DNA-damaging agents or ATR inhibitor drugs might be less effective if ATR is lost).

- **Other notable genes:** Several additional DDR and repair-related genes are recurrently mutated or assessed in breast cancer. *TP53*, while not a “DNA repair enzyme” per se, is a genome guardian frequently mutated (~30-40% of breast cancers overall and >80% of basal-like breast cancers), reflecting defective DNA damage-induced checkpoint control. *PTEN* (tumor suppressor affecting genome stability) and *CDH1* (whose loss in lobular carcinoma might interact with DNA repair processes) also appear on multi-gene panels. *BRIP1* (FANCDJ helicase) is a DDR gene associated with ovarian cancer risk and possibly modestly with breast cancer. *NF1* (neurofibromin) and *PALB2* often co-occur with BRCA mutations in high-risk patients. Additionally, large-scale sequencing has identified a long tail of rare DDR gene mutations in breast tumors (e.g. *MRE11*, *NBN*, *POLQ*), though their individual contributions are still being elucidated (Table 1).

In terms of molecular breast cancer **subtypes**, DDR gene alterations are not evenly distributed. Germline *BRCA1* mutations almost universally lead to triple-negative, basal-like breast cancers, whereas germline *BRCA2* mutations more often cause luminal (ER-positive) tumors (Zhou & Zhang, 2025). Beyond BRCA, patterns are emerging: *CHEK2* and *ATM* carriers tend to develop ER-positive, HER2-negative cancers (i.e. luminal subtypes) (Hu et al., 2021). In contrast, *BARD1* and *PALB2* mutations show strong associations with triple-negative breast cancer (Hu et al., 2021). Somatic DDR mutations also differ by subtype; one study found non-BRCA DDR mutations were most frequent in HER2-enriched tumors (~20% had some DDR gene alteration), followed by luminal B, then triple-negative and lowest in luminal A (Patel et al., 2024). This suggests more aggressive subtypes often have greater genomic instability and may select for DDR pathway aberrations.

Clinically, the **phenotypic and prognostic impact** of non-BRCA DDR gene mutations in breast cancer is an area of active research. Some DDR gene mutations clearly drive high-risk cancer syndromes (*TP53* mutations cause Li-Fraumeni syndrome with early-onset cancers; *PALB2* carriers have high lifetime risk similar to BRCA2). Others, like *CHEK2* and *ATM*, confer moderate risk and might be associated with later onset or more indolent tumors on average. Tumor behavior can be influenced by DDR status: for example, BRCA1-related breast cancers are often high-grade but also exquisitely sensitive to DNA-damaging chemotherapy (platinum agents) (Zhou & Zhang, 2025). It is not yet fully clear if tumors with other DDR defects share this enhanced chemosensitivity; some evidence indicates *PALB2*-mutated cancers respond well to platinum and *CHEK2*-mutant cancers might have outcomes similar to sporadic cancers, but data are mixed. Large cohort analyses suggest that carrying a pathogenic variant in *ATM*, *CHEK2*, or other moderate-risk genes does confer some increased risk of second primary cancers and may impact survival, but to a much lesser extent than *BRCA1/2* mutations. Overall, recognizing DDR

gene alterations beyond BRCA is important, as these aberrations expand the spectrum of “BRCA-like” biology and have implications for therapy and genetic counseling, as discussed in later sections.

Gene	Germline / Somatic	Risk Level	Subtype Association	Therapeutic Sensitivity
ATM	Both	Moderate	ER-positive (especially), HER2-negative	Platinum?, ATR inhibitors
CHEK2	Both	Moderate	ER-positive, HER2-negative	Platinum?, limited PARPi response
PALB2	Germline	High	Triple-negative ↑, ER-positive	PARP inhibitors ↑, Platinum ↑
RAD51C / RAD51D	Primarily Germline; Somatic methylation (RAD51C)	Low–Moderate	Triple-negative, ER-negative	PARPi ↑, HRD-targeted therapies
BARD1	Germline	Moderate	Triple-negative ↑	PARPi potential (HRD-like)
FANCA	Both	Low?	Triple-negative (especially somatic loss)	Platinum?, HRD-related
ATR	Mostly Somatic	Unclear / Low	HER2-enriched, Luminal B ↑	ATR inhibitors ↑, Platinum
TP53	Both	High (Li-Fraumeni syndrome)	Basal-like, Triple-negative	WEE1 inhibitors, PARPi (selected cases)
BRIP1	Germline (low frequency)	Low	Not well defined	Platinum? (under investigation)
POLQ (POLθ)	Somatic	Unknown	Possibly HRD-associated	POLQ inhibitors (in development)

Table 1: DDR Genes and Their Associations with Breast Cancer

4. Functional Consequences of DDR Deficiency

Deficiencies in DNA damage response pathways; whether due to germline mutations like *BRCA1/2* or somatic loss of other repair genes; have profound functional effects on tumor cells. One major consequence is increased **genomic instability**, which is a hallmark of cancers with DDR defects. When homologous recombination or other high-fidelity repair mechanisms fail, cells resort to mutagenic repair or tolerate DNA damage, leading to accumulating mutations, chromosomal aberrations (deletions, amplifications, translocations) and an overall “scattered” genome. For instance, tumors with HR repair deficiency often exhibit a characteristic pattern of genomic alterations: loss of heterozygosity (LOH) at many loci, large-scale state transitions and telomeric allelic imbalances. These are the genomic scars that form the basis of **HRD scoring** in tumor DNA tests (Patel et al., 2024). Genomic instability can drive tumor heterogeneity and evolution but also creates vulnerabilities that can be targeted by certain therapies (e.g. the synthetic lethal strategies discussed earlier).

DDR-deficient tumors also display distinctive **mutational signatures**. Homologous recombination deficiency is associated with specific patterns of DNA sequence mutations. The COSMIC mutational signature 3, characterized by a high incidence of deletions with flanking microhomology, is strongly linked to HR-defective cancers such as *BRCA1/2*-mutant tumors (Cancer Sanger Institute, n.d.) (Min et al., 2020).

Beyond genomic instability, DDR defects influence the **tumor microenvironment and immune interactions** in important ways. Accumulation of DNA damage can lead to the presence of cytosolic DNA fragments in cancer cells; either from unrepaired double-strand breaks or aberrant DNA structures extruded from the nucleus. These cytosolic DNA fragments activate the cyclic GMP-AMP synthase, STING pathway (cGAS-STING), an innate immune sensing mechanism normally responsible for detecting viral DNA. In DDR-deficient tumors, spontaneous activation of cGAS-STING can occur, triggering downstream production of type I interferons and other pro-inflammatory cytokines (Reisländer et al., 2020). This can have dual effects: on one hand, it may promote an **anti-tumor immune response** by recruiting and activating dendritic cells, macrophages and T cells in the tumor microenvironment (tumors with HRD often show higher levels of tumor-infiltrating lymphocytes, as seen in many *BRCA1*-mutant triple-negative breast cancers). On the other hand, chronic STING activation might lead to adaptive immune resistance or an immunosuppressive milieu in some contexts (through induction of immune checkpoints or myeloid suppressor cells). The net effect appears to be context-dependent, but importantly, DDR deficiency can make tumors more immunogenic by increasing their **neoantigen load** (owing to a higher mutation burden) and by activating innate immune pathways (Reisländer et al., 2020). This provides a rationale for combining DDR-targeting therapies with immunotherapies, as discussed later. It is noteworthy that a different kind of DDR defect; mismatch repair deficiency (defective MMR); leads to extremely high mutational burden and is strongly immunogenic, evidenced by the efficacy of immune checkpoint inhibitors in MMR-deficient cancers. Although

HR-deficient breast cancers don't reach the mutation burden of MMR-deficient tumors, they still have above-average mutations and indels that may provoke immune recognition.

One of the practical measures of DDR deficiency in clinical oncology is the **Homologous Recombination Deficiency (HRD) score**. This score is a quantitative representation of the “genomic scars” left by HR repair failure. Commercial assays (e.g. Myriad's MyChoice® HRD test) calculate an HRD score based on the number of LOH regions, telomeric allelic imbalances (TAI) and large-scale transitions (LST) across the tumor genome. In breast cancer, an HRD score above a certain threshold (commonly ≥ 42) is used to define HR-deficient tumors, even in the absence of *BRCA* mutations. These scores have been validated to correlate with *BRCA1/2* status and predict response to platinum chemotherapy and PARP inhibitors in both breast and ovarian cancers (Patel et al., 2024). For example, in the TNT trial in triple-negative breast cancer, only tumors with either *BRCA1/2* mutations or high HRD scores benefited significantly from carboplatin over standard docetaxel, underscoring that HRD is the phenotype driving platinum sensitivity. Beyond MyChoice, other genomic scar assays and algorithms exist (for example FoundationFocus CDx *BRCA* (LOH-based) and HRDdetect) and they all aim to capture the downstream effect of any HR pathway defect (Patel et al., 2024). It should be mentioned that these DNA-based scores are imperfect proxies; emerging functional assays, such as the RAD51 foci immunofluorescence test (which directly measures a tumor cell's ability to form RAD51 repair foci after DNA damage), may more precisely identify HR-deficient tumors (Castroviejo-Bermejo et al., 2018). In any case, HRD scoring has become an important clinical biomarker, particularly in ovarian cancer management and is being incorporated into breast cancer trials.

Finally, an intriguing aspect of DDR deficiency is its **interaction with the immune system** at a therapeutic level. As noted, HRD tumors can be more immunogenic and conversely, some components of the immune system can influence DNA repair. For instance, interferon signaling can downregulate HR genes in tumors and activated T cells secreting interferon- γ might induce a state of “*BRCA*-ness” in cancer cells. Additionally, certain DDR pathway inhibitors cause an accumulation of cytosolic DNA, which robustly triggers the cGAS-STING pathway and can thereby **potentiate anti-tumor immunity**. This synergy is being explored to turn “cold” tumors “hot”; for example combining PARP inhibitors (which cause DNA fragments via replication fork collapse) with immune checkpoint blockade to amplify T-cell responses. The STING pathway link also suggests potential for STING agonists in HRD tumors to enhance immune-mediated clearance. Preclinical studies show that tumors defective in DDR components (like ATM or CHK1) may be more susceptible to immune killing and that exploiting the immunostimulatory byproducts of DDR failure (such as micronuclei and cytosolic DNA) could improve immunotherapy outcomes (Reisländer et al., 2020). Thus, DDR deficiency not only drives cancer evolution through genomic instability but also creates new vulnerabilities (genomic, immunologic and metabolic) that researchers and clinicians aim to exploit.

5. Therapeutic Exploitation of DDR Defects

The recognition that DNA repair defects can be targeted for cancer therapy has led to a new class of treatments and clinical strategies. The prototypical success in this realm is the development of **PARP inhibitors (PARPi)** for *BRCA*-mutated cancers, which demonstrated the power of synthetic lethality in the clinic. In breast cancer, two PARP inhibitors (**olaparib** and **talazoparib**) are now approved for patients with germline *BRCA1/2* mutations and others (niraparib, rucaparib) are approved in ovarian and being tested in breast settings. These small-molecule inhibitors trap PARP1/2 enzymes on DNA and block their role in single-strand break repair, leading to an accumulation of DNA damage that is particularly toxic to cells already compromised in homologous recombination (like *BRCA*-mutant cells) (Patel et al., 2024). Clinical trials such as OlympiAD (evaluating olaparib versus chemotherapy in HER2-negative metastatic breast cancer with germline *BRCA* mutations) and EMBRACA (comparing talazoparib with chemotherapy in a similar cohort) demonstrated significant improvements in progression-free survival with PARP inhibitor therapy; median PFS of approximately 7-8.8 months for PARP inhibitors versus 4-5.6 months for chemotherapy; as well as higher objective response rates (Robson et al., 2017; Litton et al., 2018). These findings led to the regulatory approval of olaparib and talazoparib for the treatment of metastatic germline *BRCA*-mutated breast cancer. More recently, the OlympiA trial demonstrated that adjuvant olaparib after standard therapy significantly improved outcomes in high-risk early-stage breast cancer patients with germline *BRCA* mutations (Tutt et al., 2021), expanding PARPi use into the curative setting.

An important question has been whether PARP inhibitors can be effective in tumors with **DDR defects beyond *BRCA1/2***. This is a logical extension of the BRCAness concept; if a breast tumor is homologous recombination-deficient due to some other gene (say *PALB2* or *RAD51C*), will it respond to PARP inhibition similarly to a *BRCA*-mutant tumor? Early evidence suggests that some non-*BRCA* DDR alterations do confer sensitivity to PARPi, though responses may be more variable. For example, germline *PALB2*-mutated breast cancers appear to be quite responsive to PARP inhibitors, with multiple case reports and small series showing significant tumor regressions (because *PALB2* loss, like *BRCA2* loss, disrupts HR). In a phase II study of olaparib for metastatic breast cancer patients carrying germline DDR gene mutations other than *BRCA1/2*, those with *PALB2* mutations had response rates on the order of 80%, whereas those with *ATM* or *CHEK2* mutations had much lower response rates (~5-10%). This aligns with biological expectations: *ATM* or *CHEK2* loss causes a checkpoint defect rather than a direct HR repair block, which may not be as acutely exploitable by PARP inhibition. The combination trial TOPACIO tested **niraparib (a PARP inhibitor)** plus pembrolizumab in metastatic triple-negative breast cancer and reported that even some non-*BRCA* HRD-positive tumors responded, but the highest response rates were still observed in *BRCA*-mutant tumors (Patel et al., 2024). Similarly, in the Talazoparib plus Avelumab (JAVELIN) trial, patients with *ATM*-mutated tumors had minimal responses compared to those with *BRCA*-mutated tumors (Patel et al., 2024). Overall, PARP inhibitors have clear efficacy in *BRCA1/2*-deficient cancers; beyond that, they

show activity in a subset of HRD tumors (e.g. *PALB2*, *RAD51C*, somatic BRCA mutations), but not all DDR defects predict sensitivity. This has driven efforts to refine biomarkers (like HRD score or functional HR assays) to select patients without BRCA mutations who might benefit from PARPi.

Beyond PARP inhibitors, a wave of **new targeted agents** is in development to exploit other DDR vulnerabilities. These include inhibitors of key signaling kinases and repair enzymes such as:

- **ATR inhibitors:** ATR is essential for responding to replication stress; inhibitors like **ceralasertib (AZD6738)** and **elimusertib (BAY 1895344)** have shown potent activity especially in tumors with ATM loss (because ATR and ATM pathways are partially redundant, ATM-deficient cells depend heavily on ATR) (Smith et al., 2024). Early trials in solid tumors have indicated that ATR inhibitors can cause tumor regressions in patients with *ATM*-mutant cancers and can synergize with platinum or PARP inhibitors by preventing the repair of therapy-induced DNA damage. For instance, in an exploratory arm of a trial, combining olaparib with an ATR inhibitor yielded durable disease control in some advanced breast cancers (PlasmaMATCH trial cohort with ATR inhibitor + olaparib) (Amato et al., 2024). Ongoing phase II studies are evaluating ATR inhibitors in metastatic breast cancer with specific DDR defects (e.g. *ATM*-deficient tumors).
- **CHK1/CHK2 inhibitors:** These aim at the checkpoint kinases that mediate cell cycle arrest after DNA damage. **CHK1 inhibitors** (prexasertib, for example) override the S/G2 checkpoint and force cells with DNA damage into lethal mitosis. They have shown single-agent activity in HR-deficient tumor models and are being tested clinically, though toxicity (myelosuppression) has been a challenge. **CHK2 inhibitors** are less developed, as CHK2 is a tumor suppressor in some contexts and its inhibition is less obviously therapeutic. But, in combination, blocking CHK1 can prevent HR repair initiation and blocking WEE1 can push cells through G2; a one-two punch causing “mitotic catastrophe” in genomically unstable cells.
- **WEE1 inhibitors:** WEE1 is a kinase that enforces the G2/M checkpoint by inhibiting CDK1; thus, WEE1 inhibition (e.g. with **adavosertib**) drives cells with DNA damage into premature mitosis. WEE1 inhibitors have shown promise especially in TP53-mutant cancers (which lack the G1 checkpoint and rely on G2 arrest). In breast cancer, preclinical studies indicate WEE1 inhibition can be effective in combination with other agents for triple-negative disease and can synergize with PARP inhibitors by exacerbating replication stress (Kumar et al., 2025; Smith et al., 2024). A recent trial reported that adavosertib monotherapy had modest activity in metastatic TNBC, but combinations (with chemotherapy or other DDR inhibitors) are being actively explored.
- **POLθ (POLQ) inhibitors:** Polymerase theta is a specialized DNA polymerase involved in the microhomology-mediated end-joining pathway (also called the “alternative NHEJ” pathway). Tumors defective in HR tend to rely on POLθ to repair DSBs through this mutagenic backup mechanism. This makes POLθ a synthetic lethal partner with HR

defects; inhibiting POL θ in an HR-deficient context can cause un-repaired breaks to accumulate. POL θ inhibitors (such as Novartis' *POLQ* inhibitor and Artios's compounds) are currently in preclinical or early clinical stages. If successful, they could selectively kill HRD tumors (including BRCA-mutant cancers) and possibly treat PARP-resistant tumors that restored HR by other means.

Other DDR targets under investigation include **ATR**X (related to alt-NHEJ and telomere maintenance), **DNA-PKcs** (critical for NHEJ; DNA-PK inhibitors like pposertib are in trials, often combined with radiotherapy) and **ATM activators** or **p53 reactivators** to restore checkpoints. The overall strategy is to push genetically unstable cancer cells over the edge by removing their remaining avenues of DNA repair or checkpoint control. As a proof of concept, a recent study showed that ATR, CHK1 and WEE1 inhibitors each can "induce" an HR-deficient state in otherwise HR-proficient cancer cells and thereby sensitize them to PARP inhibitors; an approach termed *induced synthetic lethality* (Smith et al., 2024). These combinations may help overcome intrinsic or acquired PARP inhibitor resistance (for example, tumors that have restored HR might still be vulnerable to ATR or WEE1 blockade, which re-establishes an HR repair defect and resensitizes them to PARPi) (Smith et al., 2024).

Therapeutic efficacy is increasingly augmented through multimodal approaches, with the integration of PARP inhibitors and immunotherapy serving as a prime example of targeting the interplay between DNA damage and immune surveillance. The rationale is multifaceted: PARP inhibition in HRD tumors increases cytosolic DNA and tumor mutational burden, potentially enhancing neoantigen exposure and stimulating STING-dependent immune activation. Meanwhile, checkpoint blockade (anti-PD-1/PD-L1 antibodies) can unleash T cells to attack the tumor. Early-phase trials have hinted at improved efficacy with PARPi + PD-1 inhibitor combos in BRCA-mutant breast cancer. For instance, the MEDIOLA trial (olaparib plus durvalumab in BRCA-mutated metastatic breast cancer) showed an encouraging objective response rate and prolonged disease control in some patients (ORR ~63%) (Patel et al., 2024). Similarly, the TOPACIO study (niraparib + pembrolizumab) reported responses even in platinum-resistant, BRCA-mutant triple-negative cancers, suggesting a synergistic effect (Patel et al., 2024). These combinations are now being tested in larger trials, including as neoadjuvant therapy for early TNBC (e.g. combining PARP inhibitors with pembrolizumab before surgery to increase pathological complete response rates). Another strategy pairs **PARP inhibitors with anti-angiogenic agents** like bevacizumab. This approach has already succeeded in ovarian cancer (the PAOLA-1 trial showed olaparib + bevacizumab maintenance significantly benefited HRD-positive ovarian cancer patients). In breast cancer, there is biological rationale that anti-angiogenic therapy induces hypoxia and replication stress in tumors, potentially exacerbating DNA damage and making HRD tumors even more dependent on PARP-mediated repair; thereby heightening the effect of PARP inhibitors. Small studies (such as olaparib + cediranib in TNBC) have shown improved response rates, though toxicity can be a concern.

Beyond PARP, **combining ATR or WEE1 inhibitors with chemotherapy or other targeted agents** is being explored. ATR inhibitors may synergize with platinum chemotherapy (by preventing the repair of platinum-induced DNA crosslinks) and trials like CAPTUR are assessing ATR inhibitor combinations in breast cancer. WEE1 inhibitors are being combined with CDK4/6 inhibitors in hormone-receptor-positive breast cancer to abrogate cell cycle checkpoints and possibly overcome CDK inhibitor resistance. Another area of combination is **DDR inhibitors with radiation**; exploiting the fact that blocking DNA repair (ATM, DNA-PK, etc.) can radiosensitize tumors, potentially allowing lower radiation doses or tackling radioresistant cancers.

The therapeutic landscape for breast cancers with DDR defects is rapidly expanding. PARP inhibitors have validated the concept that targeting a DDR weakness can translate into real patient benefit. Now, second-generation strategies aim to extend PARP inhibitors beyond BRCA by finding robust biomarkers (like HRD score) to select likely responders; overcome resistance (through combination with ATR, WEE1, etc., or sequencing strategies); and target other nodes of the DDR network (ATR, CHK1, WEE1, POL θ) in their own right. The ultimate goal is a tailored approach where each tumor's specific repair deficiencies are met with a corresponding synthetic lethal or sensitizing therapy.

6. Clinical Implications and Genetic Testing

The broadened understanding of DNA damage response genes in breast cancer has significant clinical implications, from genetic testing and counseling to treatment decision-making and development of new biomarkers. The discovery of actionable pathogenic variants beyond the BRCA locus has compelled the adoption of multi-gene assays as the cornerstone of genetic counseling. Current protocols therefore prioritize the holistic analysis of diverse cancer susceptibility genes (like *PALB2*, *ATM*, *CHEK2*, *TP53*, *CDH1*, *RAD51C*, *RAD51D*) to ensure no actionable predisposition is overlooked. For breast cancer patients and high-risk individuals, contemporary guidelines (e.g. by ASCO, NCCN, ESMO) increasingly recommend multi-gene genetic testing if criteria for hereditary cancer are met, rather than BRCA-only tests. For instance, the American Society of Clinical Oncology updated its recommendations to consider germline testing for any breast cancer patient diagnosed by age 65, which would include panel testing covering BRCA and beyond. The National Comprehensive Cancer Network (NCCN) guidelines also endorse panel testing for those who meet personal or family history criteria, acknowledging that about 5-10% of unselected breast cancer patients carry pathogenic variants in *some* cancer predisposition gene (Rodriguez-Hernandez et al., 2025; Hu et al., 2021). Studies show that restricting testing to only BRCA1/2 can miss a substantial number of actionable findings; for example, *PALB2* mutations (found in ~0.5% of cases) or *CHEK2* (~1%) would be overlooked. Now, panel testing that includes these genes is widely available and has led to more patients being identified with moderate-risk mutations who can benefit from tailored screening and prevention (such as earlier or more frequent MRI for *ATM/CHEK2* carriers, prophylactic mastectomy consideration for *PALB2* carriers, etc.). There is an ongoing effort to fine-tune which

genes should be routinely tested; an expert working group for ESMO recently suggested a core panel for breast cancer predisposition that includes at least *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *RAD51C*, *RAD51D*, *BRIP1* and *TP53* (for very early-onset cases) (Turnbull et al., 2025). It's worth noting that some genes on panels are **moderate risk** (e.g. *CHEK2*, *ATM* confer ~2-fold risk) or associated with specific subtypes (e.g. *CDH1* with lobular breast cancer) rather than high risk across the board. Thus, post-test counseling is crucial to interpret what a positive result means for the patient and their family.

The rise of panel testing has also brought challenges in **genetic counseling and ethics**. With many more genes being analyzed, the likelihood of finding **Variants of Uncertain Significance (VUS)** increases; results that can cause anxiety but do not immediately inform clinical management. Pre-test counseling must prepare patients for this possibility. Additionally, genes like *CHEK2* or *ATM* with moderate risk may not have clear-cut management guidelines, so when a pathogenic variant is found, clinicians must navigate recommendations (e.g. some suggest increased surveillance rather than prophylactic surgery for moderate-risk genes). There are also **ethical and psychosocial considerations** unique to genetic information. Because germline findings have implications for biologically related family members, they raise important ethical considerations regarding privacy and the “duty to inform.” Patients frequently encounter challenging decisions about whether and how to disclose their genetic results to relatives who may also be at risk. Also, concerns about genetic discrimination, while mitigated in some countries by legislation (such as the U.S. GINA law), still loom in patients’ minds, worry about insurance or employment implications from genetic information is common (Hachmeriyan et al., 2025). Informed consent forms now typically address these issues, emphasizing confidentiality and legal protections. Another concern is **incidental or secondary findings**: testing might unexpectedly uncover predispositions to other diseases (for instance, discovering a *TP53* mutation, indicating Li-Fraumeni syndrome, when testing a family for *BRCA*). Despite these complexities, expanded genetic testing is largely seen as beneficial. It identifies more patients who can benefit from personalized care, but it absolutely requires robust pre- and post-test counseling to ensure patients understand the results and implications.

In the **somatic tumor testing** arena, DNA repair defects are also front-and-center. Many breast tumors, especially metastatic cases, undergo genomic profiling (either through tumor biopsy sequencing or liquid biopsy) to search for actionable mutations. *BRCA1/2* mutations can be somatic (acquired in the tumor) and if found, they may qualify a patient for PARP inhibitor therapy even if there is no germline mutation. For example, in metastatic breast cancer, NCCN guidelines acknowledge that a somatic *BRCA* mutation, if proven to be pathogenic and with loss of the wild-type allele, could be treated similarly to germline cases in terms of PARP inhibitor use, although current FDA approvals are specifically for germline mutations. Some trials (like TBCRC 048) have included patients with somatic *BRCA* mutations and shown benefit from PARP inhibitors, supporting this approach. Beyond *BRCA*, comprehensive genomic profiling might reveal mutations in genes like *PIK3CA* (targetable with alpelisib in HR+ breast cancer) or

high tumor mutational burden (qualifying for pembrolizumab). While mutations in HRD genes like *ATM* or *CHEK2* currently do not have direct targeted therapies, they contribute to the overall molecular picture. Notably, the development of **HRD scores** as a clinical test (particularly in ovarian cancer) suggests that similar tests could be applied to breast tumors: some breast cancer profiling assays now report an “HRD status” or HRD score based on genomic scars, which might inform the likelihood of response to platinum chemo or PARP inhibitors. For now, routine HRD testing in breast cancer is not standard of care (except in research or clinical trial settings), but it is being actively studied. For instance, the neoadjuvant BRAVO trial is evaluating if HRD score can predict pathologic complete response to platinum-based chemo in triple-negative breast cancer.

The evolving knowledge of DDR defects is also influencing **clinical guidelines** and practice recommendations. As mentioned, guidelines for genetic testing have broadened. Treatment guidelines are also incorporating DDR considerations: for example, the addition of adjuvant olaparib for high-risk *BRCA*-mutated early breast cancer was swiftly integrated into NCCN and ASCO guidelines after the OlympiA trial results. Moreover, panels like ESMO and ASCO have published recommendations on the use of PARP inhibitors in metastatic breast cancer, on the management of hereditary syndromes and on testing tumor HRD status in clinical trials. We are witnessing a shift toward more **biomarker-driven therapy** in breast oncology. Just as HER2 and hormone receptors guide therapy choices, we now have *BRCA* mutation status guiding PARP inhibitor use and potentially in the future, *ATM/ATR* status guiding ATR inhibitor trials, or HRD status guiding platinum usage. This necessitates multidisciplinary collaboration: medical oncologists, genetic counselors, molecular pathologists and bioinformaticians all play a role in implementing DDR-targeted care.

Another crucial implication is in **genetic counseling and risk management** for patients who test positive for DDR gene mutations beyond *BRCA*. For example, a woman found to carry a *PALB2* mutation now should receive high-risk breast screening (annual MRI in addition to mammograms) similar to *BRCA* carriers and she might consider prophylactic mastectomy depending on family history and personal preferences, since *PALB2* has a high risk (almost 50% lifetime risk). *CHEK2* and *ATM* carriers are typically advised to start screening by age 40 (if not earlier) and perhaps alternate MRI and mammogram every 6 months, though prophylactic surgeries are not routinely recommended for these moderate-risk genes. *TP53* mutation carriers (Li-Fraumeni syndrome) require even more intensive screening (including whole-body MRI) due to risk of multiple cancers. The cascade testing of family members is another implication: when a patient is found to have a pathogenic DDR gene mutation, their blood relatives can be offered predictive testing to clarify who else is at risk. This cascade testing has the potential to enable preventive measures in asymptomatic carriers (e.g. risk-reducing salpingo-oophorectomy in *BRCA2* carriers, colonoscopies starting early in *CHEK2* carriers if also relevant to colon cancer, etc.). The ethical dimension here involves respecting autonomy and ensuring informed consent

for relatives; not everyone may want to know their status and genetic counselors must tread carefully.

In the domain of **biomarker development**, DDR deficiencies are spurring new ideas. For instance, researchers are exploring blood-based markers of HRD; such as detecting chromosomal instability features in circulating tumor DNA. There is interest in using a liquid biopsy to monitor **acquired resistance** to PARP inhibitors: tumors initially sensitive to PARP inhibitors can acquire secondary mutations (reversion mutations in BRCA genes that restore BRCA protein function). These BRCA reversion mutations have been detected in circulating tumor DNA of patients who become resistant to PARP inhibitors (Amato et al., 2024). In the future, regularly sampling blood for such mutations could provide an early warning that the tumor is evolving resistance, prompting a change in therapy. In fact, a scenario is envisioned where a *BRCA1/2*-mutated patient on a PARP inhibitor undergoes serial liquid biopsies and the emergence of a BRCA reversion mutation in blood would signal that the drug will soon fail, allowing the clinician to switch treatment before clinical progression. This kind of dynamic biomarker could greatly improve the management of DDR-targeted therapies.

Overall, the incorporation of the DDR network into clinical practice is still in relatively early stages, but it is accelerating. We now recognize that assessing a breast cancer patient's "*DNA repair profile*" (via germline testing, tumor sequencing, or genomic scar assays) can yield valuable information for both prognosis and therapy selection. The next frontier is making these tools widely accessible and evidence-based: for example, establishing HRD testing as a standard companion diagnostic if PARP inhibitors are to be used beyond BRCA mutations, or updating survivorship care guidelines to reflect the outcomes of patients with DDR-deficient tumors (some studies hint they may have distinct patterns of metastasis or chemo responsiveness). Equally important is educating clinicians and patients about these advances, as navigating the complexity of multi-gene testing and targeted therapies requires clear communication.

Collectively, the clinical implications of going "beyond BRCA" are broad; from who gets tested, to how we manage risk, to what treatments we choose; and they underscore the move toward more personalized, genome-informed cancer care.

7. Future Perspectives

As research continues to illuminate the DNA damage response network, several exciting future directions are on the horizon that could further improve outcomes in breast cancer:

DDR-Immune Therapy Synergy: The intersection of DNA damage repair (DDR) defects and immunotherapy is highly promising. Tumors with DNA repair deficiencies often respond better to immune checkpoint inhibitors, and targeting DDR can make tumors more immunogenic. Clinical trials are increasingly testing DDR inhibitors (like ATR, WEE1, or PARP inhibitors) in combination with immunotherapies such as anti-PD-1 antibodies, aiming to enhance T-cell activity. New agents like STING agonists or cGAS modulators may further boost immune

sensing in DDR-deficient tumors. As understanding of the immune microenvironment improves, patient selection based on specific DNA repair mutations may become possible. Ultimately, combining DDR inhibition with immunotherapy; an emerging field called immunogenomics; could enable more durable cancer control or even cures by linking genomic instability with immune activation.

Liquid Biopsy and Longitudinal Monitoring: Managing DDR-defective breast cancer is moving toward real-time, minimally invasive monitoring using liquid biopsies, blood tests that analyze circulating tumor DNA (ctDNA). These tests can detect resistance mutations such as BRCA reversions during PARP inhibitor therapy and may soon allow clinicians to track mutation frequencies (e.g., BRCA2) as markers of tumor burden or emerging resistance in genes like PARP1, TP53, or RB1. Liquid biopsies could also help with early detection, minimal residual disease (MRD) monitoring after treatment, and identifying multiple tumor subclones that a single tissue biopsy might miss. In the future, features like HRD genomic scars or mutational signatures may even be derived from ctDNA, enabling noninvasive identification of HR-deficient tumors. Already, ESMO recommends liquid biopsy for genotyping when tissue samples are unavailable, and its use will expand as technology improves; particularly for tracking the dynamic genomic evolution of DDR-deficient cancers.

Artificial Intelligence and Bioinformatics in DDR Profiling: The complexity of the DDR network and massive genomic data make it ideal for artificial intelligence (AI) applications. Machine learning models are now identifying DDR defect patterns from diverse data sources. For example, DeepHRD, a deep learning model, can predict homologous recombination deficiency (HRD) directly from digitized pathology slides, achieving accuracy comparable to genomic tests (Bergstrom et al., 2024). Such tools could make HRD testing faster and more accessible. Other AI systems like HRDetect and CHORD analyze genomic data to detect HRD and predict PARP inhibitor sensitivity, even in tumors without BRCA mutations [(Štancl et al., 2022)]. Future models may integrate multi-omics data; DNA, RNA, proteomics and imaging to create a unified “DDR deficiency score”, offering deeper insights into tumor biology. AI could also enable digital tumor twins to simulate therapeutic responses and identify new synthetic lethal targets across the DDR network, accelerating personalized treatment strategies and drug discovery in DDR-defective cancers.

“BRCA Afterlife”: Network-Based Thinking and Personalized Therapy

The phrase “BRCA afterlife” alludes to the idea that even in a post-BRCA era, the legacy of BRCA research lives on and expands. We have learned from BRCA-mutant cancers that focusing on a **network** (like HR repair) rather than single genes yields powerful therapeutic insights. The future likely holds a more **network-based or pathway-centric approach** in oncology. Instead of siloing patients by single gene mutations, we may classify tumors by functional states (e.g. “HRD-positive”, “MMR-deficient”, “replication-stress-high”). This integrated classification would guide therapy: for a patient identified as “HRD-positive” due to any cause (BRCA

mutation, PALB2 mutation, or unknown reasons but high HRD score), the treatment paradigm would be similar (PARP inhibitors, platinum, etc.), essentially making the individual gene mutation less important than the network state. To achieve this, systematic biology tools that map the interactions among DDR pathways will be invaluable. Future clinical trials might test therapies in all “genomic instability-high” cancers regardless of tissue origin, as it is already seen with pan-cancer approvals like pembrolizumab for MSI-high tumors. In breast cancer specifically, one can envision trials that enroll patients based on composite DDR biomarkers for example, a trial of an ATR inhibitor in any patient whose tumor shows evidence of an ATR pathway dependency (which might include ATM-null, CHEK1-amplified, or FANCD2-deficient cases across different subtypes).

Another emerging concept is **adaptive or sequential therapy** in DDR-deficient cancers. Since these tumors evolve under treatment pressure (often restoring DNA repair to gain resistance), one future strategy is to alternate or combine therapies to prevent the cancer from “fixing” its Achilles heel. For instance, alternating a PARP inhibitor with a DNA damage inducer or an ATR inhibitor might keep the tumor off-balance; if it tries to compensate for one, it gets hit by the other. Intelligent, adaptive trial designs that use real-time genomic monitoring (via serial biopsies or ctDNA) can test such strategies, adjusting therapy as the tumor’s DDR status shifts.

In the long run, the goal is **personalized therapy paradigms** where each breast cancer patient’s treatment is individualized based on an array of biomarkers, including the detailed status of their tumor’s DNA damage response network. We foresee molecular tumor boards evaluating not just ER, PR, HER2 and BRCA, but a full “DDR profile” for each case. In early-stage disease, this profile might inform neoadjuvant treatment choice (e.g. adding a PARP inhibitor in an HRD-positive TNBC neoadjuvantly, as is being tested in the I-SPY2 trial). In metastatic disease, it could dictate sequences of targeted therapies (e.g. starting with PARP inhibitor if HRD, then moving to immunotherapy or an ATR inhibitor if a reversion mutation appears).

Finally, **education and survivorship** will adapt to these advances. Oncologists will need ongoing education on interpreting genetic tests and genomic reports. Patients with inherited DDR mutations (beyond BRCA) will become a larger part of the survivorship pool, necessitating tailored follow-up guidelines (for example, how to surveil *CHEK2* carriers for second cancers, or how to manage menopausal symptoms in *BRCA* mutation carriers on extended PARP inhibitor adjuvant therapy). Psychosocial support specific to hereditary cancer (support groups, etc.) will broaden to include those with “new” genes like *PALB2* or *RAD51C*.

Concisely, the future of breast oncology in the post-BRCA era is one of **integrated genomics**: leveraging deep knowledge of the DNA damage response network to inform prevention, diagnosis, treatment and monitoring. The vision is that no patient’s cancer will be defined by a single gene mutation; instead, it will be characterized by a constellation of molecular features that together map onto targeted interventions. This network-based, personalized approach holds the

promise of further improving outcomes by making sure the right patient gets the right therapy at the right time, based on the unique vulnerabilities of their tumor.

8. Conclusion

The DNA damage response network has emerged as a central pillar of breast cancer biology and therapeutics in the era beyond BRCA. While *BRCA1* and *BRCA2* initially revealed the pivotal role of DNA repair in cancer susceptibility and therapeutic response, it is now understood that these genes function within a broader, highly interconnected network that collectively preserves genomic integrity. Defects in various components of this system (from checkpoint kinases like ATM to repair enzymes like RAD51 and beyond) can drive cancer development and simultaneously create exploitable weaknesses in tumors. Harnessing this knowledge, clinicians and researchers have begun to move from a “BRCA-centric” model to a “DDR network” model, wherein multiple genes and pathways are considered in risk assessment and therapy planning.

In clinical practice, this paradigm shift is already being felt. Genetic testing for breast cancer predisposition no longer stops at *BRCA1/2* but routinely includes a panel of DDR genes, leading to more personalized screening and prevention strategies for carriers of genes such as *PALB2*, *CHEK2* and *ATM*. On the therapeutic front, PARP inhibitors have become a prime example of translating DDR biology into patient benefit and their success is paving the way for newer agents targeting other facets of the DDR (ATR, CHK1/2, WEE1, etc.) to enter the clinic. The concept of synthetic lethality, once a genetic idea, is now a treatment reality extending beyond BRCA-mutant cancers to those with a homologous recombination-deficient phenotype.

Importantly, the integration of DDR-based approaches into oncology is still evolving and holds great potential for the future. As outlined, combinations of DDR inhibitors with immunotherapies could unlock durable responses by engaging the immune system against genomically unstable tumors. Advanced diagnostics like ctDNA analysis and AI-driven pathology are poised to refine how we detect and monitor DDR defects, making truly personalized, adaptive treatment strategies feasible. The network-based thinking encourages us to consider how multiple pathways intersect; for example, how a tumor might compensate for one repair defect by upregulating another pathway and how we might counteract that through rational drug combinations.

From a translational research perspective, the “BRCA afterlife” underscores the importance of systems biology; we are moving toward viewing cancer through the lens of networks rather than single genes. This holistic approach will be critical in tackling challenges like drug resistance. Already, the phenomenon of BRCA reversion mutations teaches us that tumors can evolve to restore network function; thus, a network-level understanding will inform second-line interventions (e.g. using an ATR or WEE1 inhibitor to target a BRCA-reverted tumor). It also underlines the importance of continual innovation: just as PARP inhibitors were unthinkable before the BRCA discovery, there may be entirely new classes of drugs in the future acting on currently obscure DNA repair targets or synthetic lethal relationships we have yet to discover.

In conclusion, the DNA damage response network represents a rich network of molecular interactions that is fundamentally important in breast cancer risk, development and treatment. Going “beyond BRCA” means embracing this complexity and using it to the patient’s advantage; whether by identifying those at risk through broader genetic insight or by killing cancer cells through their achilles’ heel of genomic instability. The integration of DDR knowledge into clinical practice holds the promise of more effective and tailored treatments, improved survival and perhaps even prevention of some cancers. As we look to the future of genomic oncology, the experience with BRCA serves as both a guide and an inspiration: it taught us that understanding one gene could transform care; now, understanding the whole network could revolutionize it. The emphasis on network-based thinking is a reminder that curing cancer will likely involve combinations and systems-level interventions. Continued multidisciplinary collaboration across these fields is essential to refine therapeutic approaches and ultimately extend survival for patients harboring DDR pathway alterations. In conclusion, extending our focus beyond *BRCA* to the broader DNA damage response network provides critical insights for patient management, enabling the development of therapeutic approaches that effectively target the genomic instability inherent in these tumors

References

- Amato, O., Giannopoulou, N., & Ignatiadis, M. (2024). Circulating tumor DNA validity and potential uses in metastatic breast cancer. *npj Breast Cancer*, 10, 21. <https://doi.org/10.1038/s41523-024-00626-6>
- Bergstrom, E. N., Abbasi, A., Díaz-Gay, M., Galland, L., Ladoire, S., Lippman, S. M., & Alexandrov, L. B. (2024). Deep learning artificial intelligence predicts homologous recombination deficiency and platinum response from histologic slides. *Journal of Clinical Oncology*, 42(30), 3550–3560. <https://doi.org/10.1200/JCO.23.02641>
- Cancer Sanger Institute. (n.d.). *Signatures of mutational processes in human cancer (version 2)*. Retrieved December 18, 2025, from https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/signatures_v2/
- Castroviejo-Bermejo, M., Cruz, C., Llop-Guevara, A., Gutiérrez-Enríquez, S., Ducy, M., Ibrahim, Y. H., Gris-Oliver, A., Pellegrino, B., Bruna, A., Guzmán, M., Rodríguez, O., Grueso, J., Bonache, S., Moles-Fernández, A., Villacampa, G., Viaplana, C., Gómez, P., Vidal, M., Peg, V., ... Serra, V. (2018). A RAD51 assay feasible in routine tumor samples calls PARP inhibitor response beyond BRCA mutation. *EMBO Molecular Medicine*, 10(12), e9172. <https://doi.org/10.15252/emmm.201809172>

Hachmeriyan, M., Levkova, M., Yahya, D., Stoyanova, M., & Dimitrova, E. (2025). Ethical and psychosocial issues associated with genetic testing for hereditary tumor predisposition syndromes. *Healthcare*, 13(8), 880. <https://doi.org/10.3390/healthcare13080880>

Helleday, T. (2011). The underlying mechanism for the PARP and BRCA synthetic lethality: Clearing up the misunderstandings. *Molecular Oncology*, 5(4), 387–393. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2011.07.001>

Hu, C., Hart, S. N., Gnanaolivu, R., Huang, H., Lee, K. Y., Na, J., Gao, C., Lilyquist, J., Yadav, S., Boddicker, N. J., Samara, R., Klebba, J., Ambrosone, C. B., Anton-Culver, H., Auer, P., Bandera, E. V., Bernstein, L., Bertrand, K. A., Burnside, E. S., Carter, B. D., ... Couch, F. J. (2021). A population-based study of genes previously implicated in breast cancer. *The New England Journal of Medicine*, 384(5), 440–451. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2005936>

Kumar, N. A., Manasa, P., & Chandrasekaran, J. (2025). Revisiting CHK1 and WEE1 kinases as therapeutic targets in cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer*, 1880(6), 189482. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2025.189482>

Litton, J. K., Rugo, H. S., Ettl, J., Hurvitz, S. A., Gonçalves, A., Lee, K. H., Fehrenbacher, L., Yerushalmi, R., Mina, L. A., Martin, M., Roché, H., Im, Y. H., Quek, R. G. W., Markova, D., Tudor, I. C., Hannah, A. L., Eiermann, W., & Blum, J. L. (2018). Talazoparib in patients with advanced breast cancer and a germline BRCA mutation. *The New England Journal of Medicine*, 379(8), 753–763. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1802905>

Lord, C. J., & Ashworth, A. (2016). BRCAness revisited. *Nature Reviews Cancer*, 16(2), 110–120. <https://doi.org/10.1038/nrc.2015.21>

Min, A., Kim, K., Jeong, K., Choi, S., Kim, S., Suh, K. J., Lee, K. H., Kim, S., & Im, S. A. (2020). Homologous repair deficiency score for identifying breast cancers with defective DNA damage response. *Scientific Reports*, 10(1), 12506. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68176-y>

Patel, V., Casimiro, S., Abreu, C., Barroso, T., de Sousa, R. T., Torres, S., *et al.* (2024). DNA damage targeted therapy for advanced breast cancer. *Exploration of Targeted Anti-tumor Therapy*, 5, 678–698. <https://doi.org/10.37349/etat.2024.00241>

Reisländer, T., Groelly, F. J., & Tarsounas, M. (2020). DNA damage and cancer immunotherapy: A STING in the tale. *Molecular Cell*, 80(1), 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.07.026>

Robson, M., Im, S. A., Senkus, E., Xu, B., Domchek, S. M., Masuda, N., Delaloge, S., Li, W., Tung, N., Armstrong, A., Wu, W., Goessl, C., Runswick, S., & Conte, P. (2017). Olaparib for metastatic breast cancer in patients with a germline BRCA mutation. *The New England Journal of Medicine*, 377(6), 523–533. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1706450>

Rodriguez-Hernandez, A., Martínez-Sáez, O., Brasó-Maristany, F., Conte, B., Gómez, R., García-Fructuoso, I., Fratini, B., Segui, E., Potrony, M., Sanfeliu, E., Cobo, S., Galvan, P., Moreno, L., Grau, E., Aceituno, M. R., Puig-Butille, J. A., Oriola, J., Goberna, G., Blasco, P., Adamo, B. (2025). Prevalence and clinical impact of germline pathogenic variants in breast cancer: A descriptive large single-center study. *ESMO Open*, 10(4), 104543. <https://doi.org/10.1016/j.esmoop.2025.104543>

Smith, H. L., Willmore, E., Prendergast, L., & Curtin, N. J. (2024). ATR, CHK1 and WEE1 inhibitors cause homologous recombination repair deficiency to induce synthetic lethality with PARP inhibitors. *British Journal of Cancer*, 131(5), 905–917. <https://doi.org/10.1038/s41416-024-02745-0>

Štancl, P., Hamel, N., Sigel, K. M., Foulkes, W. D., Karlić, R., & Polak, P. (2022). The great majority of homologous recombination repair-deficient tumors are accounted for by established causes. *Frontiers in Genetics*, 13, 852159. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.852159>

Turnbull, C., Achatz, M. I., Balmaña, J., Castro, E., Curigliano, G., Cybulski, C., Domchek, S. M., Evans, D. G., Hanson, H., Hoogerbrugge, N., James, P. A., Krause, A., Nathanson, K. L., Ngeow Yuen Yie, J., Robson, M., Tischkowitz, M., Westphalen, B., & Foulkes, W. D. (2025). Breast cancer germline multigene panel testing in mainstream oncology based on clinical–public health utility: ESMO Precision Oncology Working Group recommendations. *Annals of Oncology*, 36(8), 853–865. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2025.04.012>

Tutt, A. N. J., Garber, J. E., Kaufman, B., Viale, G., Fumagalli, D., Rastogi, P., Gelber, R. D., de Azambuja, E., Fielding, A., Balmaña, J., Domchek, S. M., Gelmon, K. A., Hollingsworth, S. J., Korde, L. A., Linderholm, B., Bandos, H., Senkus, E., Suga, J. M., Shao, Z., Geyer, C. E. Jr. (2021). Adjuvant olaparib for patients with BRCA1- or BRCA2-mutated breast cancer. *The New England Journal of Medicine*, 384(25), 2394–2405. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2105215>

Zhou, T., & Zhang, J. (2025). Therapeutic advances and application of PARP inhibitors in breast cancer. *Translational Oncology*, 57, 102410. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2025.102410>

SERVİKAL OMURGA DEJENERASYONU: NÖROLOJİK DİSFONKSİYON, İNFLAMATUVAR SÜREÇLER VE DİSK BİYOLOJİSİNİN MOLEKÜLER TEMELLERİ*

Hande AKALAN¹

1. Giriş

Servikal omurga dejenerasyonu, yaşlanan popülasyonda yaygın olarak görülen ve genellikle servikal spondiloz adı verilen bir dizi patolojik süreci kapsamaktadır (Kuo, 2023). Bu dejeneratif değişiklikler, intervertebral disk (İVD) dehidrasyonu, disk yüksekliği kaybı, faset eklem artrozu, ligamentöz hipertrofi ve osteofit oluşumu gibi yapısal bozulmaları içerir (Karaarslan ve ark., 2022; Kuo, 2023). Bu süreçler, spinal kanal ve nöral foramenlerde daralmaya yol açarak servikal radikülopati ve dejeneratif servikal miyelopati (DCM) gibi ciddi nörolojik olaylara neden olabilmektedir (Akter, 2020; Young, 2000). Dejeneratif servikal miyelopati (DCM), yaşlılarda spinal kord disfonksiyonunun en yaygın nedenidir ve yaşam kalitesini düşürmektedir (Young, 2000).

Bu kitap bölümü, servikal omurga dejenerasyonunun temelini oluşturan disk biyolojisindeki değişimleri, inflamasyonun moleküler düzeydeki rolünü ve bu moleküler olayların sinir sistemi üzerindeki etkilerini incelemektedir. Amaç, dejeneratif sürecin sadece mekanik bir yıpranma değil, aynı zamanda karmaşık nörolojik ve moleküler mekanizmaları içeren dinamik bir fizyopatoloji olduğunu ortaya koyarak, özellikle epigenetik, otoimmünite, nörotrofinler, mikrogliya aktivasyonu ve santral sensitizasyon gibi yeni moleküler hedeflere odaklanmaktır.

2. Servikal Omurganın Normal Anatomisi ve Biyomekaniği

Servikal omurga, başın hareketliliğini ve stabilitesini sağlayan, yedi adet omurdan (C1-C7) oluşan kompleks bir yapıdır. Bu bölgenin biyomekaniği, intervertebral disk (İVD)'ler, faset eklemler ve ligamentöz yapılar arasındaki hassas dengeye dayanmaktadır.

2.1. İntervertebral Diskin Yapısı ve Biyokimyası

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Yalova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, hande.akalan@yalova.edu.tr, ORCID: 0000-0002-5922-2498,

İVD, omurganın temel şok emici ve hareket segmentini oluşturan avasküler bir yapıdır. Nukleus Pulposus (NP), Annulus Fibrosus (AF) ve Kıkırdak Son Plak (End-Plate) olmak üzere üç ana bileşenden oluşmaktadır (Karaarslan ve ark., 2022). NP, yüksek oranda su (%70-90) ve proteoglikanlar (özellikle agrekan) içerir (Fakhoury, 2023). Bu yüksek su içeriği, diskin basınca karşı direncini sağlar. AF ise esas olarak Tip I kollajen liflerinden oluşur ve diskin gerilme kuvvetlerine karşı dayanıklılığını sağlar (Karaarslan ve ark., 2022). NP'nin biyokimyasal yapısı, esas olarak Tip II kollajen ve agrekan gibi büyük proteoglikan moleküllerinden oluşur. Bu biyokimyasal denge, diskin sağlıklı fonksiyonu için önemlidir (Fakhoury, 2023).

2.2. Faset Eklemler ve Ligamentöz Yapılar

Faset eklemler, servikal omurganın hareket yönünü ve sınırlarını belirleyen sinovyal eklemlerdir. Dejeneratif süreçte bu eklemlerde gelişen artroz, omurga kanalına doğru büyüyerek nöral yapılara bası yapabilir (Karaarslan ve ark., 2022). Ligamentum flavum, posterior longitudinal ligament ve anterior longitudinal ligament gibi ligamentöz yapılar da dejenerasyonla birlikte kalınlaşarak (hipertrofi) spinal kanal darlığına neden olabilir (Karaarslan ve ark., 2022).

3. İntervertebral Disk Dejenerasyonunun Fizyopatolojisi

İVD dejenerasyonu, yaşlanmanın doğal bir sonucu kabul edilse de patogenezinde genetik yatkınlık, mekanik yüklenme ve biyokimyasal değişimler gibi çok faktörlü etiyolojiler rol oynar (Karaarslan ve ark., 2022).

3.1. Dejeneratif Sürecin Başlangıcı ve Evreleri

Dejeneratif süreç, genellikle NP'nin biyokimyasal yapısındaki değişimlerle başlar. Bu süreç; dehidrasyon, proteoglikan kaybı ve kollajen yapısında meydana gelen bozulmalarla ilerlemekte olup (Fakhoury, 2023), disfonksiyon, instabilite ve stabilizasyon evreleri şeklinde sınıflandırılmaktadır (Karaarslan ve ark., 2022).

3.2. Disk Biyolojisindeki Değişimler: Dehidrasyon ve Proteoglikan Kaybı

Dejenerasyonun en belirgin biyokimyasal işareti, NP'nin su tutma kapasitesinin azalmasıdır. Bu durum, agrekan moleküllerinin parçalanması ve kaybı ile ilişkilidir (Fakhoury, 2023). Agrekan kaybı, NP'nin ozmotik basıncını düşürerek suyun diskten dışarı sızmasına neden olur. Disk yüksekliğindeki bu kayıp, omurlar arası mesafeyi daraltır ve nöral foramenleri küçülterek radikülopati riskini artırır (Kuo, 2023).

3.3. Hipoksi, Anjiyogenez ve Nöral İnvazyonun Rolü

Sağlıklı İVD, avasküler ve hipoksik bir ortamdan oluşmaktadır. Dejeneratif süreçte bu ortam bozulur.

•**Hipoksi ve HIF-1 α :** NP hücreleri, düşük oksijen seviyelerine (hipoksi) uyum sağlamıştır. Ancak dejenerasyon ilerledikçe, NP'deki hücre sayısı azalır ve bu yapıların dokusal beslenmesinde bozukluklar meydana gelir. Hipoksi İndüklenebilir Faktör-1 Alfa (HIF-1 α), hücrelerin hipoksiye yanıtını düzenleyen temel transkripsiyon faktörüdür. Dejenere disklerde HIF-1 α 'nın rolü kompleks olup; bir yandan hücre canlılığını korurken diğer yandan inflamatuvar reaksiyonlar sırasında anjiyogenezi (yeni damar oluşumu) artırabilir (Kwon ve ark., 2017).

•**Anjiyogenez:** Normal koşullarda avasküler yapıda olan İVD'ye damar invazyonu, dejenerasyonun önemli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. İnflamatuvar süreçler sırasında gelişen hipoksi, anjiyogenezi tetikleyerek diskin dejeneratif progresyonunu hızlandırabilmektedir (Kwon ve ark., 2017).

•**Nöral İnvazyon:** Anjiyogenezi takiben, normalde innerve olmayan diskin dış katmanlarına (AF) sinir liflerinin girişiyle nöral invazyon meydana gelmektedir. Bu lifler, ağrı iletiminden sorumlu nosiseptif özellikte olup diskojenik ağrının gelişiminde temel rol oynamaktadır.

3.4. Epigenetik Mekanizmalar: Gen İfadesinin Düzenlenmesi

Genetik faktörlere ek olarak, DNA dizilimini değiştirmeden gen ifadesini düzenleyen ve kalıtsal etkilere neden olan epigenetik mekanizmalar, İVD dejenerasyonunun patogeneziinde önemlidir (Li ve ark., 2022).

•**DNA Metilasyonu:** Genellikle gen susturulması ile ilişkilidir. Dejenere disklerde, NP hücrelerinin fenotipini koruyan genlerin promotör bölgelerinde anormal metilasyon paternleri gözlemlenmiştir (Yeater ve ark., 2025).

•**Histon Modifikasyonları:** Histon proteinlerinin asetilasyonu veya metilasyonu, DNA'nın sıkılığını değiştirerek gen transkripsiyonunu etkiler. Dejeneratif süreçte, katabolik genlerin (örneğin, MMP'ler) ifadesini artıran ve anabolik genlerin ifadesini azaltan histon modifikasyonları bulunmaktadır (Li ve ark., 2022).

•**Kodlamayan RNA'lar (ncRNA'lar):** MikroRNA'lar (miRNA'lar) ve uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA'lar), İVD hücrelerinin proliferasyonu, apoptozu ve ekstrasellüler matriks (ESM) sentezini düzenleyerek dejeneratif süreci hızlandırır (Kang ve ark., 2023). Örneğin, bazı miRNA'ların pro-

inflatuar sitokinlerin ifadesini düzenlediği ve böylece inflamasyonun epigenetik kontrolünde rol oynadığı gösterilmiştir (Kang ve ark., 2023).

4. Moleküler Mekanizmalar: İnflamasyon ve Adaptif İmmün Sistemin Rolü

Servikal omurga dejenerasyonunun progresyonunda inflamasyon belirleyici bir etkiye sahip olup, bu süreçte dejenere intervertebral disk dokusu proinflatuar sitokinler ve katabolik enzimler için önemli bir kaynak oluşturarak dejeneratif sürecin devamlılığını sağlamaktadır.

4.1. İnflatuar Sitokinlerin Rolü

İVD dejenerasyonunda en çok çalışılan pro-inflatuar sitokinler Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF- α), İnterlökin-1 Beta (IL-1 β), İnterlökin-6 (IL-6) ve İnterlökin-8 (IL-8)'dir (Karaarslan ve ark., 2022).

•**TNF- α ve IL-1 β :** Bu sitokinler, disk hücrelerini uyararak Matriks Metaloproteinaz (MMP) üretimini artırır ve aggrekan sentezini baskılar (Karaarslan ve ark., 2022). Bu sitokinlerin nöral doku üzerindeki doğrudan toksik etkileri de DCM'de patogenezinde önemlidir (Tu ve ark., 2021).

•**IL-6:** IL-6'nın, DCM hastalarında serum ve beyin omurilik sıvısı (BOS) düzeylerinde artış gösterdiği bildirilmiş olup, bu durum kronik inflamasyonun önemli biyobelirteçlerinden biri olarak değerlendirilmektedir (Du ve ark., 2018; Kang ve ark., 2024). Nörorejeneratif etkileri tanımlanmış olmasına karşın, IL-6'nın uzun süreli ve yüksek düzeylerde seyretmesi patolojik süreçlerin başlamasına ve progresyonuna zemin hazırlayabilmektedir (Du ve ark., 2018).

•**Nöro-inflamasyon:** Disk hernisinde, disk dokusundan salınan sitokinler ile prostaglandin E2 (PGE2) gibi inflamatuvar mediatörler, sinir kökü çevresinde nöroinflamatuvar bir yanıt oluşturarak mekanik bası bulunmasa dahi radiküler ağrının ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Karaarslan ve ark., 2022).

4.2. Adaptif İmmün Sistemin Rolü: Otoimmünite ve T Hücreleri

İntervertebral disk (İVD), normal koşullarda immün yanıtın baskın olmadığı bir yapı olarak kabul edilir; ancak dejenerasyon ve herniasyon durumlarında bu durum değişebilmektedir.

•**Otoimmünite:** NP, vücudun diğer bölgelerinde bulunmayan özel proteinler içerir. AF yırtıldığında ve NP materyali epidural alana sızdığında, bu proteinler immün sistem tarafından yabancı olarak algılanabilir ve bir otoimmün yanıt oluşabilir (Ye ve ark., 2022).

•**T Hücreleri:** Dejenere veya herniye disklerde aktive T hücrelerinin varlığı rapor edilmiştir (Ye ve ark., 2022). Bu T hücreleri, inflamatuvar sitokinleri salgılayarak disk dokusuna ve sinir köküne zarar verebilir. Özellikle lomber disk hernilerinde, T hücrelerinin (özellikle gama-delta T hücrelerinin) varlığı ve fenotipi, hastalığın prognozu ile ilişkilendirilmiştir (Qin ve ark., 2024). Bu bulgular, servikal disk dejenerasyonunda da adaptif immün sistemin potansiyel bir rolü olduğunu düşündürmektedir.

5. Nörolojik Mekanizmalar ve Klinik Korelasyonlar

Servikal omurga dejenerasyonunun nörolojik sonuçları, servikal radikülopati ve dejeneratif servikal miyelopati (DCM) olmak üzere iki ana başlıkta incelenir. Her iki durumda da mekanik kompresyon ve kimyasal irritasyon mekanizmaları beraber etkinlik göstermektedir.

5.1. Servikal Radikülopati: Mekanik Kompresyon ve Kimyasal İritasyon

Servikal radikülopati, sinir kökünün sıkışması veya tahrip olması sonucu boyun, omuz, kol ve elde ağrı, uyuşma ve güçsüzlük ile karakterizedir.

5.1.1. Mekanik Kompresyonun Nöral Dokuya Etkisi

Disk yüksekliği kaybı, osteofit oluşumu ve faset eklem hipertrofisi, intervertebral foramenleri daraltarak sinir köküne doğrudan bası uygular (Karaarslan ve ark., 2022). Bu mekanik bası, sinir kökünde iskemi ve ödem oluşumuna yol açar. Kronik kompresyon, sinir liflerinde demyelinizasyona ve aksonal hasara neden olarak sinir iletimini bozmaktadır (Kuo, 2023).

5.1.2. Kimyasal İritasyonun (Nöro-inflamasyon) Rolü

Herniye disk materyalinden salgılanan PGE2, TNF- α , IL-1 β ve MMP'ler gibi kimyasal mediatörler, sinir kökü çevresindeki dokularda inflamatuvar bir yanıt oluşumunu tetikler (Karaarslan ve ark., 2022). Bu nöro-inflamasyon, sinir kökünün hassasiyetini artırarak ağrı sinyallerinin oluşumunu artırır (Karaarslan ve ark., 2022).

5.2. Dejeneratif Servikal Miyelopati (DCM)

Dejeneratif Servikal Miyelopati (DCM), servikal omurga dejenerasyonunun spinal korda bası yapması sonucu ortaya çıkan, yaşlılarda en sık görülen spinal kord disfonksiyonu nedenidir (Young, 2000).

5.2.1. DCM'nin Fizyopatolojik Temelleri

DCM'nin fizyopatolojisi, spinal kord üzerindeki statik ve dinamik kompresyonun birleşimiyle karakterizedir (Akter, 2020). Kronik kompresyon, spinal kordda mikro-vasküler yapılar üzerinde baskı oluşturarak iskemiye ve

hipoksiye neden olur (John, t.y.). Bu durum, nöral dokuda hücrel hasarı tetikler.

6. DCM'de Nöral Doku Hasarının Moleküler Yolları

DCM'de spinal kord hasarı, sadece mekanik basının doğrudan sonucu değil, aynı zamanda karmaşık moleküler olayların bir sonucudur.

6.1. Oligodendrosit Apoptozu ve Demyelinizasyon

Spinal kord kompresyonuna yanıt olarak, oligodendrositlerin (miyelini üreten hücreler) apoptozu (programlanmış hücre ölümü) meydana gelir (Etheridge, 2014; Tu ve ark., 2021). Bu apoptoz, aksonal dejenerasyondan önce ortaya çıkar ve nörolojik hasarın temel moleküler mekanizmalarından biri olarak kabul edilir (Dolan, 2016). Oligodendrositlerin kaybı, komşu aksonların miyelin kılıfının bozulmasına (demyelinizasyon) ve sonuç olarak sinir iletim hızının yavaşlamasına veya durmasına neden olur (Etheridge, 2014).

6.2. Mikroglia ve Makrofaj Aktivasyonu: Nöro-inflamasyonun Kronikleşmesi

DCM'de kronik spinal kord kompresyonu, spinal kord içinde mikroglia (merkezi sinir sisteminin yerleşik immün hücreleri) ve makrofajların (infiltrate eden immün hücreler) aktivasyonuna yol açar (Brockie ve ark., 2021; Takeura ve ark., 2019).

•**Mikroglia Fenotipleri:** Aktive olmuş mikroglia, iki ana fenotipte bulunabilir:

•**M1 (Pro-inflamatuvar) Fenotip:** Hasarın erken aşamalarında baskın olup, TNF- α ve IL-1 β gibi sitokinleri salgılayarak nöronal hasarı artırır (Hirai ve ark., 2013). Kronik DCM'de bu fenotipin varlığı, devam eden nöro-inflamasyonu ve hasarı gösterir.

•**M2 (Anti-inflamatuvar/Rejeneratif) Fenotip:** Hasarın çözülme ve onarım aşamalarında baskın olup, IL-4 ve IL-10 gibi sitokinleri salgılayarak doku onarımını ve rejenerasyonu destekler (Hirai ve ark., 2013).

•**Kronik Ağrı ve Mikroglia:** Kronik nöropatik ağrı, uzun süreli spinal kord kompresyonunda infiltrate eden makrofajlar ve aktive olmuş mikroglia ile ilişkilidir (Takeura ve ark., 2019). Bu hücrelerin aktivasyonu, nöronal hipereksitabiliteye ve santral sensitizasyona katkıda bulunur.

6.3. Nörotrofinlerin Rolü

Nöronal hayatta kalım, farklılaşma ve aksonal rejenerasyon süreçlerinde etkili olan nörotrofinlerin dengesi, DCM patogeneğinde bozulma göstermektedir.

•**BDNF (Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör):** BDNF, nöronal sağkalım ve sinaptik plastisiteyi düzenleyen başlıca nörotrofinlerden biridir. BDNF genindeki Val66Met polimorfizminin, CSM'li hastalarda nörolojik sonuçlarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Abode-Iyamah ve ark., 2016)

•**NT-3 (Nörotrofin-3):** NT-3, oligodendrosit sağkalımı ve miyelin rejenerasyonunda işlevsel rol üstlenen bir nörotrofin olarak tanımlanmakta olup, spinal kord kompresyonunun NT-3 düzeylerini modüle ederek nöral hasara neden olabileceği belirtilmektedir (Akter, 2020).

7. Ağrı Mekanizmaları ve Santral Sensitizasyon

Servikal omurga dejenerasyonuna bağlı kronik ağrı, sadece periferik sinir sıkışması ile açıklanamayan karmaşık mekanizmaları içerir. Santral Sensitizasyon (CS), bu kronik ağrının bileşenlerinden biridir.

7.1. Santral Sensitizasyon Kavramı

CS, merkezi sinir sisteminde (spinal kord ve beyin) yer alan nöronların, tekrarlayıcı veya kronik ağrılı uyaranlara karşı aşırı duyarlılık geliştirmesiyle tanımlanır. Bu durum, ağrı eşiğinde düşüşe ve ağrının şiddetinde artışa neden olur. DCM ve servikal radikülopatili bireylerde CS'nin varlığı, ağrı algısının artması ve yayılım göstermesiyle ilişkilidir (Kondo ve ark., 2020).

7.2. CS'nin Moleküler Temelleri

CS'nin moleküler temelleri, spinal kordda meydana gelen sinaptik plastisite değişiklikleri ve özellikle glutamat olmak üzere nörotransmitterlerin aşırı salınımı ile bağlantılıdır.

•**NMDA Reseptörleri:** Glutamatın bağlanmasıyla aktive olan N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin aşırı aktivasyonu, nöronların uyarılabilirliğini artırarak CS'ye yol açmaktadır.

•**Mikroglia ve Astrositler:** Aktive olmuş mikroglia ve astrositler, pro-inflamatuar sitokinler ve kemokinler salgılayarak spinal korddaki nöronların uyarılabilirliğini artırır ve CS'nin gelişimini destekler (Takeura ve ark., 2019).

7.3. CS'nin Klinik Önemi

CS'nin varlığı, DCM hastalarında cerrahi sonrası ağrı ve fonksiyonel sonuçları olumsuz etkileyebilir (Akeda ve ark., 2022). Bu nedenle, DCM'nin tedavisinde sadece mekanik dekompresyon değil, aynı zamanda CS'yi hedef

alan farmakolojik ve non-farmakolojik yaklaşımların da dikkate alınması gerekmektedir (Kondo ve ark., 2020).

8. Biyolojik Tedavi Yaklaşımları ve Gelecek Perspektifleri

Servikal omurga dejenerasyonunun fizyopatolojisindeki moleküler mekanizmaların anlaşılması, yeni biyolojik tedavi stratejilerinin geliştirilmesine olanak tanımaktadır.

8.1. Disk Rejenerasyonu Hedefleri

Tedavi yaklaşımları, NP hücrelerinin canlılığını artırmayı, proteoglikan sentezini teşvik etmeyi ve ESM yıkımını yavaşlatmayı hedeflemektedir. Büyüme faktörleri (örneğin, TGF- β , BMP-2) ve kök hücre tedavileri, dejenere diskin biyokimyasal yapısını onarmak için umut verici yaklaşımlardır (Karaarslan ve ark., 2022).

8.2. Nöroproteksiyon ve Anti-inflamatuar Stratejiler

DCM'de nöral hasarın önlenmesine yönelik yaklaşımlar, oligodendrosit apoptozu ve demiyelinizasyon süreçlerini hedef almaktadır. Özellikle TNF- α ve IL-1 β inhibitörleri gibi anti-inflamatuar ajanlar, nöroinflamasyonu baskılayarak sinir kökü ve spinal kord hasarını sınırlayabilmektedir (Karaarslan ve ark., 2022). Mikroglia aktivasyonunun M2 (rejeneratif) fenotipe yönlendirilmesi de potansiyel bir nöroprotektif yaklaşım olarak değerlendirilmektedir. Buna ek olarak, nörotrofik faktörler ve anti-apoptotik ajanlar, nöron ve oligodendrositlerin sağkalımını destekleyerek nörolojik iyileşmenin teşvik edilmesini amaçlamaktadır (Tu ve ark., 2021).

8.3. Yeni Moleküler Hedefler

•**Epigenetik Düzenleyiciler:** DNA metilasyonunu veya histon modifikasyonlarını hedef alan ilaçlar, dejeneratif gen ifadesini tersine çevirerek İVD dejenerasyonunu yavaşlatma potansiyeline sahiptir.

•**İmmün Modülasyon:** T hücrelerinin aktivasyonunu ve otoimmün yanıtı modüle eden tedaviler, özellikle disk hernisi kaynaklı nöro-inflamasyonu azaltmada etkili olabilir.

•**Santral Sensitizasyon İnhibitörleri:** NMDA reseptör antagonistleri veya mikroglia aktivasyonunu baskılayan ajanlar, kronik servikal ağrının tedavisinde yeni farmakolojik yaklaşımlar sunabilir.

9. Sonuç

Servikal omurga dejenerasyonu, intervertebral diskin biyokimyasal bütünlüğündeki bozulmalarla başlayan ve inflamatuvar moleküler sinyal

yollarının aktivasyonu ile hızlanan çok boyutlu bir süreçtir. Bu moleküler değişiklikler, sinir kökleri ve spinal kord üzerinde hem mekanik kompresyon hem de kimyasal irritasyon oluşturarak servikal radikülopati ve dejeneratif servikal miyelopati (DCM) gibi ciddi nörolojik tabloların gelişimine zemin hazırlar. Özellikle DCM’de oligodendrosit apoptozu, mikroglial aktivasyon, nörotrofin dengesizlikleri ve santral sensitizasyon gibi moleküler mekanizmaların nöral hasarın ilerlemesinde belirleyici olduğu gösterilmiştir. Bu ayrıntılı fizyopatolojik çerçeve, gelecekte geliştirilecek biyolojik ve farmakolojik tedavi yaklaşımları için güçlü bir altyapı sunmaktadır..

Kaynakça

Abode-Iyamah, K. O., Stoner, K. E., Grossbach, A. J., & Howard, M. A. (2016). Effects of brain derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism in patients with cervical spondylotic myelopathy. *Journal of Clinical Neuroscience*, 24, 117-121. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2015.09.006>

Akeda, K., Kondo, Y., & Hino, K. (2022). Influence of Central Sensitization on Surgical Outcomes of Patients with Degenerative Cervical Myelopathy after Posterior Decompression Surgery: A Multicenter Study. *Asian Spine Journal*, 16(6), 875-883. <https://doi.org/10.3171/2022.1.SPINE211085>

Akter, F. (2020). The Pathophysiology of Degenerative Cervical Myelopathy. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 138. <https://www.frontiersin.org/journals/neuroscience/articles/10.3389/fnins.2020.00138/full>

Brockie, S., Li, H., & Chen, Y. (2021). The Role of Microglia in Modulating Neuroinflammation after Spinal Cord Injury. *Biomedicines*, 9(10), 1358. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9101358>

Dolan, R. T. (2016). Mechanical and cellular processes driving cervical spondylotic myelopathy. *World Journal of Orthopedics*, 7(1), 20-27. <https://www.wjgnet.com/2218-5836/full/v7/i1/20.htm>

Du, S., Chen, Y., Chen, J., Li, Y., & Liu, H. (2018). Interleukin-6 Serum Levels Are Elevated in Individuals with Degenerative Cervical Myelopathy. *Orthopaedic Surgery*, 10(4), 319-324. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6201703/>

Etheridge, J. (2014). The pathophysiology and biological mechanisms of cervical spondylotic myelopathy. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 28(1), 101-110. <https://doi.org/10.1016/j.berh.2014.02.001>

Fakhoury, J. (2023). Cervical Degenerative Disc Disease. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560772/>

Hirai, T., Uchida, K., Nakajima, H., & Yayama, T. (2013). Chronic Progressive Spinal Cord Compression Induces Changes in the Phenotype Markers of Microglia/Macrophages. *PLoS One*, 8(5), e64528. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064528>

John, J. (t.y.). Cervical Spondylotic Myelopathy (Degenerative Cervical Myelopathy). American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation. <https://now.aapmr.org/cervical-spondylotic-myelopathy/>

Kang, L., Liu, J., & Li, G. (2023). Epigenetic modifications of inflammation in intervertebral disc degeneration. *International Immunopharmacology*, 117, 109893. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.109893>

Kang, X., Wang, Y., Liu, X., & Liu, Y. (2024). Increased Expression of Inflammatory Cytokines and Chemokines in Degenerative Cervical Myelopathy. *Orthopaedic Surgery*, 16(2), 436-445. <https://doi.org/10.1111/os.13963>

Karaarslan, N., Yılmaz, İ., Çalışkan, T., & Somay, H. (2022). Servikal Spinal Dejenerasyonun Fizyopatolojisi. *Türk Nöroşirürji Dergisi*, 32(3), 305-309. <https://norosirurji.dergisi.org/pdf.php?id=1826>

Kondo, Y., Akeda, K., & Hino, K. (2020). Effects of Central Sensitivity Syndrome and Psychological Factors on the Clinical Features in Patients with Degenerative Cervical Myelopathy. *Spine Surgery and Related Research*, 4(5), 415-421. <https://doi.org/10.22603/ssrr.2020-0068>

Kuo, D. T. (2023). Cervical Spondylosis. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551557/>

Kwon, W. K., Kim, Y. S., & Lee, S. H. (2017). The Role of Hypoxia in Angiogenesis and Extracellular Matrix Regulation of Intervertebral Disc Cells During Inflammatory Reactions. *Neurosurgery*, 81(5), 841-849. <https://doi.org/10.1093/neuros/nyx180>

Li, G., Wang, Y., & Liu, J. (2022). Epigenetic regulation in intervertebral disc degeneration. *Trends in Molecular Medicine*, 28(11), 941-953. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2022.08.006>

Qin, C., Li, X., & Zhang, Y. (2024). Causal relationship between the blood immune cells and intervertebral disc degeneration: A Mendelian randomization study. *Frontiers in Immunology*, 15, 1321295. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1321295>

Takeura, N., Uchida, K., Nakajima, H., & Yayama, T. (2019). Role of macrophages and activated microglia in chronic neuropathic pain after spinal

cord compression. *Scientific Reports*, 9(1), 15530.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-52234-1>

Tu, J., Chen, Y., & Liu, H. (2021). Degenerative Cervical Myelopathy: Insights into Its Pathobiology and Molecular Mechanisms. *Journal of Clinical Medicine*, 10(6), 1214. <https://doi.org/10.3390/jcm10061214>

Wang, G., Cao, Y., Wu, T., Duan, C., Wu, J., & Hu, J. (2017). Genetic factors of cervical spondylotic myelopathy-a systemic review. *Journal of Clinical Neuroscience*, 44, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2017.06.019>

Yeater, T. D., Han, J., & Li, G. (2025). Investigating the Epigenetic Landscape of Disk Degeneration. *Pain Reports*, 10(4), e1108. <https://doi.org/10.1097/PR9.0000000000001108>

Ye, F., Wang, Y., & Zhang, Y. (2022). The involvement of immune system in intervertebral disc herniation and degeneration. *Journal of Orthopaedic Translation*, 33, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.jot.2022.01.002>

Young, W. F. (2000). Cervical Spondylotic Myelopathy: A Common Cause of Spinal Cord Dysfunction in Older Persons. *American Family Physician*, 62(5), 1064-1070.
<https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2000/0901/p1064.html>

TÜRKİYE VE DÜNYADA

TIBBİ BİYOLOJİ

yaz
yayınları

YAZ Yayınları

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3

İscehisar / AFYONKARAHİSAR

Tel : (0 531) 880 92 99

yazyayinlari@gmail.com • www.yazyayinlari.com