



**TIBBİ BİYOLOJİ ALANINDA BİLİMSEL  
ARAŞTIRMALAR**

**Editör: Dr.Öğr.Üyesi Özge ŞÜKRÜOĞLU ERDOĞAN**

**yaz**  
yayınları

# **Tıbbi Biyoloji Alanında Bilimsel Araştırmalar**

**Editör**

Dr.Öğr.Üyesi Özge ŞÜKRÜOĞLU ERDOĞAN

**yaz**  
yayınları

2026

**Tıbbi Biyoloji Alanında Bilimsel  
Araştırmalar**

Editör: Dr.Öğr.Üyesi Özge ŞÜKRÜOĞLU ERDOĞAN

---

**© 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 978-625-8574-96-8

Mart 2026 – 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](http://www.yazyayinlari.com)

[yazyayinlari@gmail.com](mailto:yazyayinlari@gmail.com)

## İÇİNDEKİLER

- Kekik Yağının Mide Kanseri Patogenezinde Epigenetik Mekanizmalar Üzerindeki Rolü.....1**  
*Mert PEKERBAŞ, Fatma SÖĞÜTLÜ, İsmail Mert ALKAÇ, Muhsin Özgür ÇOĞULU, Emine BAYRAM, Çığır BİRAY AVCI*
- Epidemiology, Risk Factors, and Molecular Mechanisms in Pancreatic Carcinogenesis .....39**  
*Sena ŞEN*
- Genomic Alterations and Genetic Biomarkers in Colorectal Carcinogenesis .....66**  
*Sena ŞEN*
- Böbrek Naklinde Sirküler RNA'lar: Tanı, Tedavi ve Gelecek Yönelimler .....85**  
*Eda BALKAN, Murat KIZILKAYA*
- Erkek İnfertilitesinde Genetik Mimari: Y Kromozom Mikrodelesyonları ve Azoosperminin Moleküler Patogenezi .....112**  
*Muhammed Ali NALBANT*
- Investigation of the Effects of Dabrafenib and Metformin Combination on the Wnt Signaling Pathway in Thyroid Cancer Cells.....129**  
*Hatice ÖZİŞİK, Buket ÖZEL, Sezgi KIPÇAK, Aslı SUNER, Nur Selvi GÜNEL, Çığır Biray AVCI, Banu Sarer YÜREKLİ, Nilüfer ÖZDEMİR, Mehmet ERDOĞAN*
- Beyond Type I Interferon: Contextual Constraints of Sting Signaling and Functional Diversity of Cytosolic Nucleic Acid Sensing in Cancer .....151**  
*Neslihan Pınar ÖZATEŞ*

<b>Epigenetik Biyobelirteçler ve Klinik Kullanım Potansiyeli .....</b>	<b>178</b>
<i>Rabia ÜNAL, Özge ŞÜKRÜOĞLU ERDOĞAN</i>	
<b>Kanserde Tedavi Direncinde mikroRNA'ların Rolü .....</b>	<b>203</b>
<i>İrem YILDIRIM, Bakiye GÖKER BAĞCA, Çığır BİRAY AVCI</i>	
<b>glycoRNA Biyolojisi .....</b>	<b>224</b>
<i>Zübeyde YALNIZ KAYIM</i>	

*"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."*

# **KEKİK YAĞININ MİDE KANSERİ PATOGENEZİNDE EPİGENETİK MEKANİZMALAR ÜZERİNDEKİ ROLÜ**

**Mert PEKERBAŞ<sup>1</sup>**

**Fatma SÖĞÜTLÜ<sup>2</sup>**

**İsmail Mert ALKAÇ<sup>3</sup>**

**Muhsin Özgür ÇOĞULU<sup>4</sup>**

**Emine BAYRAM<sup>5</sup>**

**Çığır BİRAY AVCI<sup>6</sup>**

## **1. GİRİŞ**

Mide kanseri (MK), sindirim sistemi maligniteleri arasında küresel ölçekte önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Güncel epidemiyolojik veriler, mide kanserinin dünya genelinde en sık görülen beşinci kanser türü olduğunu ve kansere bağlı ölümlerde dördüncü sırada yer aldığını ortaya koymaktadır (Li et al., 2025; Lin et al., 2024; Morgan et al., 2022). Cerrahi, kemoterapi, radyoterapi, hedefe yönelik tedaviler ve immünoterapi gibi çok sayıda tedavi seçeneği bulunmasına karşın, tümör içi ve tümörler arası belirgin

---

<sup>1</sup> Dr., İzmir Biyomedikal ve Genom Merkezi, ORCID: 0000-0003-0515-2858.

<sup>2</sup> Dr., Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji, ORCID: 0000-0002-1210-7660.

<sup>3</sup> Dr., Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji, ORCID: 0000-0003-0847-7738.

<sup>4</sup> Prof. Dr., Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, ORCID: 0000-0002-9037-5599.

<sup>5</sup> Prof. Dr., Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri, ORCID: 0000-0001-5856-2637.

<sup>6</sup> Prof. Dr., Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji, ORCID: 0000-0001-8251-4520.

heterojenite nedeniyle mide kanserinde beş yıllık genel sağkalım oranları halen %30'un altında seyretmektedir. Bu durum, mevcut tedavi algoritmalarının hastalığın biyolojik çeşitliliğini yeterince hedefleyemediğini göstermektedir (Guan et al., 2023; Smyth et al., 2020).

Mide kanseri olgularının büyük bir bölümü ileri evrede tanı almakta; bu aşamada kemoterapötik ajanlara karşı gelişen direnç, tedavi başarısını sınırlayan temel faktörlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır (Marin et al., 2016; Shi & Gao, 2016). Hastalık etiyojisi incelendiğinde, mide kanserlerinin yaklaşık %10'unun ailesel/genetik kökenli olduğu, %90'ının ise aktif tütün kullanımı, diyet alışkanlıkları ve *Helicobacter pylori* enfeksiyonu gibi çevresel faktörlerin etkisiyle gelişen sporadik tipten oluştuğu bilinmektedir. Sporadik mide kanserlerinde genetik değişikliklerden ziyade epigenetik düzensizliklerin baskın olması, bu mekanizmaların patogenezdaki önemini daha da artırmaktadır (Christodoulidis et al., 2024; Machlowska et al., 2020; Salvatori et al., 2023).

Epigenetik mekanizmalar; DNA dizisinde bir değişiklik olmaksızın gen ekspresyonunun düzenlenmesini sağlayan, çevresel faktörlere duyarlı ve geri dönüşümlü süreçlerdir. DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve kodlanmayan RNA'lar aracılığıyla yürütülen bu mekanizmaların mide kanseri gelişimi ve progresyonunda belirleyici rol oynadığı artık yaygın biçimde kabul edilmektedir. Epigenetik değişikliklerin geri döndürülebilir olması, bu mekanizmaları hedefleyen yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından önemli bir fırsat sunmaktadır (Bure & Nemtsova, 2021; Christodoulidis et al., 2024; Y. Wang et al., 2024).

Bu bağlamda, Akdeniz ve Ege bölgesine özgü, geleneksel tıpta yaygın kullanım alanı bulunan *Origanum onites* L. (Türk kekiği), son yıllarda antikanser özellikleri ile dikkat çeken doğal

bileşikler arasında yer almaktadır. Kekik yağının farklı kanser turlerinde sitotoksik, apoptotik, antioksidan ve antianjiyogenik etkiler gsterediği ortaya konmuş olsa da mide kanserinde epigenetik mekanizmalar üzerindeki etkilerine ilişkin literatür bilgisi oldukça sınırlıdır. Bu kitap bölümünde, mide kanserinin epigenetik temelleri ayrıntılı biçimde ele alınacak; Origanum onites L. yağının potansiyel epigenetik düzenleyici ve antikanser etkileri güncel literatür ışığında tartışılacaktır.

## **2. MİDE KANSERİ**

### **2.1. Epidemiyoloji ve Klinik Özellikler**

Mide kanseri, dünya genelinde en sık görülen kanser turlerinden biri olarak bilinmektedir. GLOBOCAN 2020 verilerine göre, MK'nın küresel morbiditesi beşinci, mortalitesi ise dördüncü sırada yer almaktadır. Erken dönemde asemptomatik olması nedeniyle birçok hastaya ileri evrede tanı konulması nedeniyle prognozu genellikle kötüdür. Erken evrede teşhis edilen mide kanseri hastalarının 5 yıllık sağ kalımı %95 iken, geç evrede tanı konulan hastalarda bu oran %20'nin altında kalmaktadır (Shi et al., 2022). MK'nin dağılımını cinsiyet ve coğrafi bölgeye ya da etnik kökene bağlı olarak en heterojen dağılım gösteren kanser grupları arasında yer almaktadır (Alsina et al., 2022). Bu coğrafi heterojen dağılım üzerinde, coğrafyaya ait beslenme alışkanlıklarının büyük rol oynadığı uzun yıllardır bilinmekte ve araştırılmaktadır.

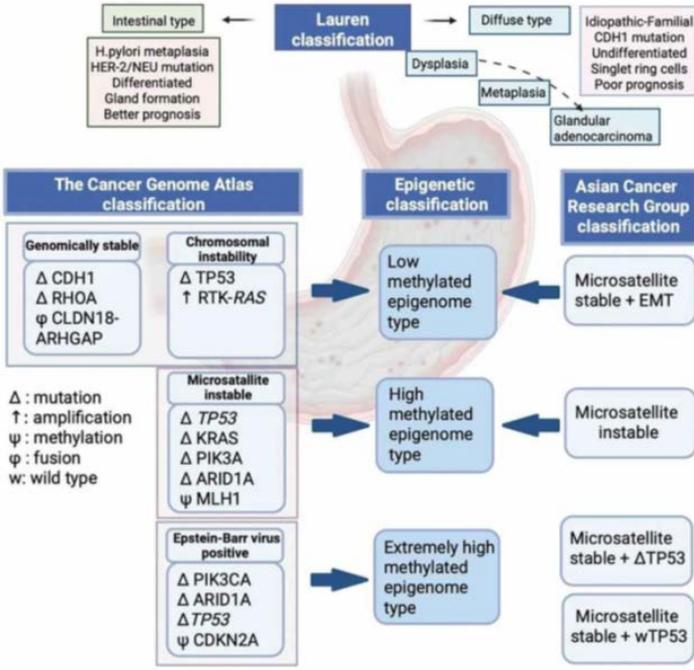
### **2.2. Histopatolojik ve Moleküler Sınıflandırma**

Günümüzde en yaygın kullanılan sınıflandırma sistemleri, Pekka Lauren tarafından 1965 yılında tanıtılan Lauren sınıflaması ve 2019 yılında güncellenen Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflamasıdır (Azbergenov et al., 2025; Lin et al., 2015; Mariette et al., 2018). Lauren sınıflamasına göre, MK histolojik olarak

Diffüz tip ve Bağırsak tipi olmak üzere iki tipe ayrılmaktadır. Bağırsak tipi mide kanseri, kronik inflamasyon veya genetik ve epigenetik değişiklikler gibi faktörlere bağlı olarak bağırsak metaplazisi, displazi ve sonunda glandüler adenokarsinom oluşumu gibi bir kanonik yol izlemektedir (Drnovsek et al., 2024; Yang et al., 2022). Diğer yandan, Diffüz tip mide kanseri, CDH1 mutasyonlarının, hücre adezyonunu bozması ve genç nesilde kötü prognoza neden olması ile bağırsak tipi adenokarsinomundan oldukça farklı patofizyolojik ve moleküler imzalar sergilemektedir (Iyer et al., 2020; Ooki & Yamaguchi, 2022). WHO sınıflandırması, özellikle bağırsak tipi adenokarsinom olmak üzere MK'ni histopatolojik görünlere göre papiller, tübüler, mukinoz veya karışık karsinom gibi çeşitli alt tiplere ayrıntılı bir şekilde sınıflandırmakta ve diğer nadir mide tümörlerini de içermektedir (Costache et al., 2023; Kuwata, 2024). Ancak bu histopatolojik sınıflandırmalar, altta yatan moleküler süreçleri ayırt etmek için yeterince açıklayıcı değildir. Bağırsak tipi mide kanserinin patogenezinin, kronik H. Pylori enfeksiyonu, EBV enfeksiyonu, çeşitli kimyasallar ve beslenme alışkanlıkları gibi dış faktörlere bağlı olarak epigenetik değişiklikler içeren birçok farklı mekanizma tarafından sorumlu olabileceği düşünülmektedir (Nagtegaal et al., 2020; Zavros & Merchant, 2022; Zeynali et al., 2024).

MK'nin moleküler patogenezi yeni nesil dizilemeyi kullanan son çalışmalar ile birlikte potansiyel kansere neden olan genlerin geniş bir repertuarı ortaya çıkarılmış ve mide kanserinin mutasyonel manzarası çizilmiştir (Bass et al., 2014; Chia & Tan, 2016; Yamamoto et al., 2014). 2014 yılında Kanser Genom Atlası (TCGA) araştırma ağı tarafından bir moleküler sınıflandırma sistemi yayınlanmıştır. Bu sınıflamaya göre, 4 moleküler sınıf önerilmiştir: genomik olarak stabil (GS), kromozomal instabilite (CIN), mikrosatellit instabil (MSI) ve Epstein-Barr virüsü pozitif (EBV+) (Bass et al., 2014). Başka bir araştırma grubu olan Asya

Kanser Araştırma Grubu, kanser dokusundaki mRNA ekspresyon düzeylerine göre bir sınıflandırma sistemi geliştirmiştir. Bu sınıflamada, mide kanseri dört moleküler gruba ayrıldı; mezankimal benzer tip, mikrosatellit instabil, TP53 aktif-mikrosatellit stabil ve TP53 inaktif-mikrosatellit stabil (Cristescu et al., 2015). Ayrıca, Matsusaka ve arkadaşlarına göre, aşırı yüksek metillenmiş epigenom tipi, yüksek metillenmiş epigenom tipi ve düşük metillenmiş epigenom tipi olmak zeri MK'nin epigenomunun metilasyon durumuna göre sınıflandırılabilceği de belirtilmiştir (Matsusaka et al., 2011). Beklenmedik bir şekilde, aşırı yüksek metillenmiş epigenom tipi, TCGA sınıflandırmasının EBV+ sınıfı ile örtüşmektedir ve yüksek metillenmiş epigenom tipi, TCGA sınıflandırmasının mikrosatellit kararsız (MSI) sınıfı ile örtüşmektedir (Padmanabhan et al., 2017) (şekil 1). Genomik olarak stabil (GS) ve kromozomal instabilite (CIN) tipleri, EBV+ ve MSI'ye göre nispeten düşük metilasyon düzeylerine sahiptir ve düşük metillenmiş epigenom profili göstermektedir (Sogutlu et al., 2022).



**Şekil 1. Sogutlu ve arkadaşları tarafından mide kanseri histopatolojik, genomik ve epigenomik sınıflamalarının ve bu sınıflandırmaların birbirleri ile ilişkilerinin şematik olarak gösterimi (Sogutlu et al., 2022).**

### **2.3. Mide kanserinin moleküler profili ve kullanılan tedavi seçenekleri**

Mide kanseri tedavi seçeneklerini sistemik kemoterapi, radyoterapi, cerrahi, immünoterapi ve hedefe yönelik tedavi oluşturmaktadır. Kemoterapötik uygulaması çoğunlukla gastrektomi öncesinde preoperatif ya da sonrasında postoperatif gerçekleşmekte olup hasta OS'nı arttırdığı randomize klinik çalışmalarda gösterilmiştir (Cai et al., 2018; Guan et al., 2023; Joshi & Badgwell, 2021).

NGS kullanımının yaygınlaşması ile birlikte, kanser genomik, epigenomik ve transkriptomik analizlerdeki gelişmeler, çeşitli malign tümörler ile genomik bilgiler arasındaki ilişkilerin

ortaya çıkarılmasında büyük rol oynamıştır. Mide kanserinde 2001 yılından 2022 yılına kadar HER2, MET, RICTOR ve Ras yolağı amplifikasyonu, EGFR, KRAS, PIK3CA, CDH1, CTNNA1, TP53, RHOA, BRCA1/2 ve RAD51 mutasyonu, RTK kodlayan genlerin %40'ında (EGFR, ERBB2, KRAS, ERBB3, FGFR2, VEGFA, JAK2, MET ve hücre döngüsü aracıları) gen amplifikasyonu, CLDN18-ARHGAP füzyon genleri, PDL-1 ifadesinin dahil olduğu bir dizi moleküler belirteç ortaya çıkarılmıştır (Deng et al., 2012; Dulak et al., 2012; Onoyama et al., 2022). Buna istinaden bu moleküllerin hedeflenebilirliğinden yola çıkılarak, sonraki on yıl boyunca geliştirilen mide kanseri için çoğu faz II ve III klinik deneyleri, bu moleküler aberrasyonları hedefleyen tedavileri içermiştir. Fakat mide kanserinde faz II ve III klinik çalışmalarının birçoğunun intratümöral ve intertmral heterojenite nedeniyle başarısızlığa uğramıştır. Mide kanseri hastalarının %36'sında tek bir hastada zamansal (primer lezyonu ve primer lezyon kaynaklı metastatik formları arasında moleküler farklılıklar) ve uzamsal (her hastada hedeflenebilir moleküllerin farklılığı) heterojenite olduğu ortaya konulmuştur (Pectasides et al., 2018). Dolayısıyla MK'nin moleküler, histolojik ve topografik farklılıklar konusunda birçok veri elde edilmesine rağmen mide kanseri, tedavi yaklaşımı bakımından genellikle tek bir hastalık olarak düşünülerek oluşturulmuştur. Batıda doksetaksel, oksaliplatin, 5-florourasil, leukovorin'in kullanımı perioperatif kemoterapi olarak standart hale gelmiştir (Lordick et al., 2022). Ayrıca TCGA tarafından 2014 yılında mide kanseri 4 alttipe sınıflandırılmış fakat bu sınıflandırma herhangi bir klinik uygulamaya evrilememiş fakat prognoz ile ilişkilendirildiğinde; i) MSI ve EBV alt tiplerine sahip olan mide tümörleri hastalarının diğer tümör alt tiplerine sahip hastalardan daha iyi bir seyir gösterdiği, ii) genomik olarak stabil mide tümörlerine sahip hastalarda rekrensine meydana geldiği, iii) CIN alt tipine sahip hastalar adjuvan kemoterapinin etkili olduğu, iv) metastatik durumda, MSI-high (MSI-H) tümörlere

sahip hastaların çoğunlukla immün kontrol noktası inhibitörleri ile tedaviye yanıt verdiği gözlemlenmiştir (Janjigian et al., 2018; Sohn et al., 2017).

## **2.4. Mide kanserinde epigenetik değişiklikler ve tedavi yaklaşımları**

Mide kanserinin %10 ailesel kökenli genetik faktörlerden ileri gelirken, %90'ı sporadik olarak diyet, yaş, sigara kullanımı ve *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) ve Epstein-Barr virüs enfeksiyonları enfeksiyonu ile ilişkilendirilerek kronik inflamasyon, atrofi, intestinal metaplazi, displazi ve nihayetinde adenokarsinoma dönüşen bir kanonik bir modele evrilmektedir. Sporadik tipler çoğunlukla epigenetik farklılıklar ile karakterize edilmektedir (Tang et al., 2022). Dolayısıyla epigenetik değişikliklerin MK'nde hem erken evrede tümör oluşumunu teşvik ettiği hem de ileri evrede progresyona katkıda bulunduğu kabul edilmektedir.

### **2.4.1. Mide kanserinde DNA metilasyonunda meydana gelen değişiklikler**

Genomda CpG adalarının metilasyonu olarak tanımlanan DNA metilasyonu, en uzun süredir bilinen ve en fazla araştırılmış olan epigenetik mekanizmadır (Skvortsova et al., 2019). Gen ifadeleri, çoğu genin promotor bölgelerinin veya gen gövdelerinin CpG adalarının metilasyon seviyeleri tarafından düzenlenebilir ve intergenik bölgelerin metilasyonu da bu düzenlemeleri etkileyebilir. Genel olarak lokal hipometilasyon onkogen aktivasyonundan sorumlu tutulurken, promotör bölgede lokal hipermetilasyonu, MK dahil birçok kanser türünde tümör baskılayıcı, hücre döngüsü düzenleyici ve DNA onarım genlerinin susturulması ile azalmış ifadesinden sorumludur. Bununla birlikte, literatürde, bazı kanser türlerinde tümör oluşumuyla ilişkilendirilen genlerde CpG olmayan metilasyon olduğu gösterilmiştir (Alshammari et al., 2022). Kısacası,

genomun farklı bölgelerinin farklı metilasyonu, birçok diğer faktörle birlikte gen ifadesinin düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır.

DNA metilasyonu ile ilgili enzimler grubu DNA metil metiltransferazlar (DNMT'ler) olarak adlandırılmaktadır. Dört işlevsel olarak farklı DNMT enzimi aynı zamanda "Metil Yazıcılar" olarak adlandırılmaktadır ve DNMT1 ve DNMT3 olarak iki gruba ayrılmaktadır. DNMT1, insanın embriyonik gelişimi sırasında ve sonraki DNA replikasyonunda edinilen metilasyon paterninin korunmasında rol oynarken; DNMT3A, DNMT3B ve DNMT3L'den oluşan DNMT3 ailesi ise genomda serbest metil gruplarının DNA'ya eklenmesinde ve metilasyon paterninin oluşturmasında görevlidir (Lima et al., 2007; Sun et al., 2021). CpG dinükleotidleri içindeki sitozinlerin 5. pozisyonunda meydana gelen metilasyon, DNA metiltransferazlar tarafından katalize edilen, 5-metilsitozin (5mC) oluşumu ve gen ekspresyonu inhibisyonu ile sonuçlanan, tersine çevrilebilir bir işlemdir. Metilasyon süreci, 5-mC'yi 5-hidroksimetilsitosine (5-hC) oksitleyen DNA'yı demetile eden ten-eleven translokasyon (TET) proteini tarafından geri çevrilerek ekspresyonunu yeniden aktive edilebilir (Padmanabhan et al., 2017).

DNMT enzimlerinin ifade ve işlevlerindeki dengesizlikler, kanser oluşumunda nadir görülmemekle birlikte ve DNMT'lerin aşırı ifadesinin, tümör baskılayıcı genleri devre dışı bırakarak farklı kanser tiplerinde rol oynadığı gösterilmiştir (Mensah et al., 2021). Yang ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen araştırmada, 54 hasta MK hastasından elde edilen doku örneklerinde tümörün lokalize olduğu bölgelerde paratümör dokusunda göre DNMT1'in aşırı eksprese edildiği, DNMT3A ekspresyonu TNM skoru ile koreld olduğu ve DNMT1,3A'nın ikisinin de ekspresyonunun ise lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Yang et al., 2011). Özellikle, Purkait ve

arkadaşları, 104 mide kanseri örneğinin incelendiği bir çalışmada, DNMT ekspresyonunun H. Pylori ile ilişkilendirilen MK'nde arttığı göstermiştir. İlginç bir şekilde, aynı doku örneklerinde histon modifikasyonunda rol oynayan bir enzim olan EZH2'nin yüksek ifadesi de tespit edilmiştir, bu da MK patogenezinde metilasyon ve histon değişikliklerinin etkili olduğunu desteklemektedir (Purkait et al., 2022).

MK ve birçok kanser türü artık moleküler sınıflandırmanın yanı sıra epigenetik sınıflandırmaya da sahiptir. CpG Adası Metilatör Fenotipi (CIMP), birçok kanser türünün epigenetik moleküler alt tipi olarak da MK'de gözlemlenmektedir. CDH1 geninin promotör hipermetilasyonu, heterozigotluk kaybı, somatik mutasyonlar ve delesyonlar hem intestinal hem de diffüz yaygın mide kanseri ile ilişkilendirilmektedir (Corso et al., 2013; Machado et al., 2001; van der Post et al., 2015).

CDKN2A geni, CDK'ların inhibisyonundan sorumlu olan, hücre döngüsünün durmasına neden olan p16'yı kodlamakta ve sıklıkla MK ve diğer gastrointestinal ve solid malignitelere promoter metilasyonu için hedef olarak bulunmaktadır (Ksiaz et al., 2009). Ayrıca, CDKN2A promotörünün metilasyonunun H. pylori ve EBV enfeksiyonlarıyla bağlantılı olarak gastrik kanser öncesi lezyonlarda da bulunması, bunun gastrik karsinogenezde rol oynayabileceğini göstermektedir (Dong et al., 2009).

Ikoma ve ark., CDKN2A, CDH1 ve RARB'nin MK hastalarının serumlarındaki metilasyon durumları ile prognozu arasındaki korelasyonu incelediklerinde hastaların sırasıyla hastaların %19'unda CDKN2A'nın %25'inde CDH1 ve RARB'nin hipermetile olduğunu saptamış ve bu üç genin hastaların totalde %48'inde hipermetile olmasının prognostik değere sahip olduğunu saptamışlardır (Ikoma et al., 2006).

Ekstrasellüler matriksin yeniden şekillenmesinde elastik lifler ve kallojenin bağlanmasında görevli LOX proteininin son yıllarda tümör hücrelerinin çoğalması, invaziv davranışı ve metastatik profil ile yakından ilişkili olduğu açığa çıkarılmıştır (Kagan & Li, 2003). Mide kanserinde ise EMT, invazyon ve migrasyon süreçlerini yöneten ve fakat metilasyon ve heterozigozite kaybı nedeniyle aktivitesini kaybeden bir tümör süpressör gen olduğunu ortaya çıkarılmıştır (Vogelstein & Kinzler, 2004). Bu sonuçlar, LOX'un insan mide kanserlerinde metilasyonla inaktive edilen bir tümör baskılayıcı gen olabileceğini ve bağımsız bir prognostik potansiyele sahip olduğu ortaya konulmuştur (Payne et al., 2007).

Mide dokusundaki metilasyon değişiklikleri ile MK riski arasında birçok ilişki kurulmuş olsa da son zamanlarda epigenetik çalışmaların önemi hızla artmıştır. nemli bir şekilde, bu metilasyon değişiklikleri kanserli doku histolojik olarak tespit edilebilmeden uzun bir süre önce meydana gelmektedir. Bu nedenle, bu değişikliklerin tespiti, klinik uygulamada kanser öncesi belirteç olarak kullanılabilir. Ayrıca, bu epigenetik değişiklikler tedavi için hedef alınabilir ve bu konuyla ilgili birçok ilaç denemesi yapılmaktadır (Christodoulidis et al., 2024; Sogutlu et al., 2022; Tang et al., 2022; X. Wang et al., 2024).

#### **2.4.2.Mide kanserinde meydana gelen histon modifikasyonları**

Tümör oluşumuna oldukça ciddi katkılar sunan diğer bir epigenetik mekanizma, kromozom seviyesinde gerçekleşen histon modifikasyonlarıdır. DNA'yı nükleozomal yapılarla sarmak için oktamerler halinde organize olan histon polipeptidlerinin N-terminal kuyrukları, 60'dan fazla farklı post-translasyonel modifikasyonla kapsamlı bir şekilde değiştirmekte ve kromatinin RNA polimeraz II ve transkripsiyon faktörlerine erişilebilirliğini değiştirerek gen ifadelerini düzenlemektedirler (Fu, 2015). Bu

modifikasyonlar arasında histon metilasyonu ve asetilasyonu, sıklıa MK patolojisine katkıda bulunan başlıca histon modifikasyonları olarak bilinmektedir (Kimura et al., 2008; Oishi et al., 2023). Fizyolojik koşullar altında, nükleozomal DNA asetillenmiş veya deasetillenmiş formda bulunur ve bu iki modifikasyon arasındaki denge, asetilasyon enzimleri [histon asetil transferazları (HAT'lar)] ve deasetilasyon enzimleri [histon deasetilazlar (HDAC'lar)] arasındaki bir denge ile korunmaktadır. Histon kuyuklarının lisin kalıntılarındaki asetilasyon, ökromatin konformasyonunu ve gen ekspresyonu aktivasyonunu desteklemektedir (Roth et al., 2001). Bugüne kadar, farklı MK tiplerinde HAT aktivitesinin, histon asetilasyonunu gerçekleştiren genlerindeki mutasyonlar ve anormal transkript seviyeleri nedeniyle azaldığı gösterilmiştir. Örneğın, HAT olarak da işlev gören bir transkripsiyon kofaktörü olan EP300, KAT5, NCOA1 ve PCAF genlerinin downregülasyonu, KAT7 ve KAT2A genlerinin upregülasyonunun MK patolojisine katkıda bulunduğı gösterilmiştir (Kim et al., 2013). Yine mide kanserinde yapılan birçok çalışmada HDAC1-4, HDAC6, HDAC8, HDAC9 ve SIRT1/2/3/6/7 genlerinin upregüle ve HDAC10, HDAC11'in downregüle olduğı gösterilmiştir (Chen et al., 2021). MK'nde, HMT grubundan PRDM2'nin mutasyonlar barındırdığı, PRDM16'nın downregüle olduğı, SMYD5 ve PRMT1'in upregüle olduğı gösterilmiştir (Meng et al., 2019). EZH2 ifadesi ile G9a, GLP, SETDB1, SETDB2, SUV39H1, SUV39H2, SETD7, SETD8, SMYD2, SMYD3, NSD1 ve WHSC1 gibi KMT genlerinin upregülasyonu, MK'nde kötü prognoz, EMT ve uzak metastaz ile ilişkilendirilmiştir (Cao et al., 2020; Saha & Muntean, 2021). LSD1, KDM3A, KDM4A, KDM4B, KDM5A, KDM5B ve KDM6B gibi HDM genlerine ait olanların MK'de upregülasyonu, TNM evresi ile ilişkilendirilmiştir (Saha & Muntean, 2021; Shang et al., 2021; Xu et al., 2019).

MK hastalarından elde edilen tümör dokularındaki H3K9me2, H3K9me3 ve H3K27me3 ifadeleri incelendiğinde, bu üç metilasyon motifinin artışının, peritümör dokusuyla karşılaştırıldığında daha kısa süreli sağkalım ile ilişkilendirildiği gözlemlenmiştir (Li et al., 2019). E-kaderin ve  $\beta$ -katenin protein kompleksi, epitelyal hücreleri sıkı bir şekilde yanyana tutarak bir bariyer görevi görmektedir. KDM4B, MK'de CTNNB1 tarafından indüklenen genlerin ifadesini artırarak hücrelerin çoğalmasına katkıda bulunduğu için H3K9me2/3 demetilasyonu yoluyla genlerin ifadesini artırarak hücrelerin çoğalmasına katkıda bulunduğu gözlemlenmiştir (Lee et al., 2020). LAMB3 ve LAMC2, bazal membran bileşenleri, H3K4me3'ün demetilasyonu yoluyla MK'de upregüle olmuş ve invaziv davranışı destekleyerek malign MK profiline katkıda bulunmuştur (Kwon et al., 2011).

Tümör baskılayıcı ve onkojen arasındaki denge sürekli olarak mutasyonlar tarafından bozulduğunu gösteren araştırmalar bulunmaktadır, ancak epigenetik değişiklikler de bu dengeyi bozmaktadır. Zhang ve ark., epigenetik anormalliklerin MK ilerlemesinde tümör baskılayıcıların ifadesine katkıda bulunduğunu gösterdiği çalışmada, EZH2'nin p15 ve p53'ü kodlayan genlerin promotör bölgesine çekildiğini ve bu genlerinin ifadesini artırarak H3K27 rezidüsünde trimetilasyonu artırarak susturduğunu belirtilmişlerdir (Zhang et al., 2019). Lizin özgül demetilazın aşırı ifadesi, p21'i kodlayan genin promotör bölgesindeki H3K4 metilasyonunu azaltarak MK progresyonuna katkıda bulunmuştur (Liu et al., 2017). H3 ve H4 histonlarının promotor ve kodlama bölgelerinin deasetilasyonu, MK hastalarında CDNK1A ifadesini azalttığına işaret ediyor (Mitani et al., 2005). Başka bir çalışma, H3K27me3 ve H3K9me3 rezidüsündeki artış ve H3K4'ün demetilasyonunda azalma nedeniyle CDNK1A ifadesinin baskılandığı belirtmiştir (Y. Chen et al., 2020).

Geç teşhis nedeniyle MK'nin sınırlı tedavi seçenekleri vardır; bu nedenle erken aşama teşhisi sağlayabilecek histon protein modifikasyonlarını tanımlamak, sağkalımı artırabilir. Tumor baskılayıcıları susturan histon lizin metiltransferaz grubuna ait bir enzim olan EHMT2, H3K9me1 (transkriptif olarak aktif) ve H3K9me2 (inaktif) konumlarına metil gruplarını eklemektedir. Chen ve arkadaşları, EHMT2 ifadesi ile H3K9me2 rezidüsü arasında MK'nde kötü sağkalım ile ilişkilendiğini bulmuşlardır (P. Chen et al., 2020). Bu nedenle histon protein modifikasyonlarını erken aşama teşhisi için kullanarak sağkalımı artırabilecek önemli bir yol sağlayabilir.

### **2.4.3. Mide kanserinde epigenetiği dzenleyen ilaçlar**

Kanserdeki epigenetik aberrasyonların devamındaki epimutasyonların önüne geçilebilmesi ve epigenetik değişiklikleri geri çevirebilme esnekliği, epigenetik değişikliklerin kanser tedavilerinde potansiyel hedefler haline gelmesini sağlamıştır. Bu amaçla yola çıkılarak, DNMT ve HDAC inhibitörleri geliştirilmeye çalışılarak, ilk DNMT inhibitörleri olan Azasitidin ve Dekzitabin 2006 yılında hematolojik malignitelere kullanımını için FDA onayı almıştır. Fakat bu ilaçlardan solid tumorler için tek ilaç olarak kullanımlarında fayda sağlanamamıştır. Fakat kemoterapötik ilaçlar ile tedavi öncesinde kullanımının tumor süpressörleri aktive ederek kemoterapötik etkinliği arttırdığı ortaya çıkarılmıştır. Devamında katı tumorlerde de biyoyararlılığa sahip farklı pH koşullarında da etkin olan Zebularin, CP-4200 ve Guadesitabin, ikinci nesil DNMT inhibitörleri geliştirilmiştir (Hu et al., 2021; Moufarrij et al., 2020; Ramaiah et al., 2021).

HDAC inhibitörü olarak ilk FDA onayını 2006 yılında Vorinostat, 2009 yılında ise Romidepsin almıştır. Birinci nesil HDAC inhibitörlerinin hızlı metabolizmasının ve zayıf farmakokinetik aktivitelerinin üstesinden gelinebilmesi için

ikinci nesil HDAC inhibitörü olan Trichostatin A, BGC-823 ve SGC-7901 geliştirilerek hızlı metaolize olmalarının önüne geçilmiş ve farmakokinetik aktiviteleri iyileştirilmiştir. Son on yıl içerisinde “epidrug” başlığı altında geliştirilen ilaçlar ile sadece DNMT ya da HDAC inhibitörü olarak değil aynı zamanda epigenetik modifikasyonlarda düzenleyici etkiye sahip olan yazıcı, okuyucu ve silici enzimlerin hedeflenmesi için inhibitörler geliştirilmiş ve doğal bileşiklerinde epigenetik düzenleyici etkilerinin üzerine düşülmeye başlanmıştır(Ganesan et al., 2019; Ocaña-Paredes et al., 2024; Webb et al., 2022; Yang et al., 2015, 2019) (Tablo 1).

**Tablo 1. Mide kanserinde kullanılan ilaçlar, hedefleri ve etki mekanizmalarının gösterimi.**

<b>İlaç</b>	<b>Hedef</b>	<b>Durum</b>	<b>Kaynak</b>
Vorinostat/capecitabine / cisplatin	HDAC	Faz II tamamlandı	(Yoo et al., 2016)
Vorinostat /folinic acid/ 5-fluorouracil/ irinotecan	HDAC	Faz I tamamlandı	(Yoo et al., 2013)
Azacytidine/epirubicin/oxaliplatin/capecitabine	DNMT	Faz I tamamlandı	(Schneider et al., 2017)

### **3. KEKİK**

#### **3.1. Origanum onites L.**

Türk kekiği olarak da bilinen Origanum onites L. bitkisine, Batı Anadolu, Güney Anadolu, Doğu Akdeniz ve Adalarda (Yunanistan’ın Güneyi) rastlanırken, denizden 1200-1400 m yüksekliğe kadar yayılım gösteren çok yıllık bir bitkidir (Kaçar et al., 2006). Yerel halk tarafından gastrointestinal hastalıklar, şeker hastalığı, hazımsızlık, karminatif, bronşit, solunum yolu hastalıkları, soğuk algınlığı, grip, yüksek tansiyon ve taşikardi gibi hastalıklar ve semptomların tedavisinde kullanılmaktadır (Özer, 2020). Hatta Anadolu’da kekik yağının şeker üzerine damlatılarak, ya da sulandırılarak tüketilmesinin mide ve bağırsak hastalıklarına iyi geldiği, hazmettirici, gaz

giderici olduğu ve viral ya da pazitik hastalıklara iyi geldiği, uzun süre tüketiminde dahi toksik etkiye sahip olmadığı görülmüştür.

O. onites L.'nin farklı yetiştirme teknikleri ve ışlah edilmesine yönelik ilk çalışmalar 1972 yılında E.Ü. Ziraat Fakóltesi Tarla Bitkileri Bölümünde Prof. Dr. Ayhan CEYLAN tarafından başlatılmıştır (CEYLAN et al., 1999). Yerel halk tarafından geleneksel tıpta kullanılması bilim insanlarının O. onites L.'nin biyolojik aktivitelerinin ve fitokimyasal özelliklerinin 1988 yılından itibaren ortaya çıkarılması için birçok çalışma yürütölmeye başlanmıştır. O. onites L.'nin toprak üstü kısımlarından elde edilen karvakrol, timol, linalool, -terpinen, a-terpinen, terpinen-4-ol, p-simen, -bisabolen, -pinen, borneol, -tujen, -karyofilen, -pinen, kamfen, -terpineol, karyofillen oksit, terpinolen, limonen ve a-phellendrane gibi monoterpenlerin *Origanum onites* L. esansiyel yağının (OOEO) ana bileşenlerinin olduğu belirlenmiştir (Özer, 2020; Tepe et al., 2016). Farmakolojik araştırmalar sonucunda bu türün antioksidan, antimikrobiyal, antikanser, analjezik, antiradikal, antibakteriyel, sitotoksik, antifungal, insektisidal, antidiyabetik, DNA sentezinin inhibisyonu ve kolinesteraz inhibitör etki göstererek geniş terapötik aktiviteye sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır (Tepe et al., 2016).

### **3.2. *Origanum onites* L.'in antikanser aktivitesi**

*Origanum* cinsinin antikanser aktivite sergilediği ilk kez 2003 yılında Zeytinoglu ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çalışma da ortaya çıkarılmıştır. Zeytinoglu ve arkadaşları, *O. onites* esansiyel yağından elde edilen karvakrolün, N-ras transformasyonuna uğramış miyoplast hücrelerinde DNA sentezini inhibe ettiği tespit etmiştir (Zeytinoglu et al., 2003). Devamında Koparal ve arkadaşları karvakrol'ün küükhücreli olmayan akciğer kanser hücreleri olan A549'da hücre sayısını azalttığı, hücre morfolojisini dejenere ettiği ve protein miktarında

azalmaya neden olduğu ortaya çıkarılmıştır (Koparal & Zeytinoglu, 2004). Gündoğan ve arkadaşları, OOEO'nun akciğer kanseri hücre hattı A549, pankreas kanseri hücre hattı MIA PaCa ve endotelial hücre hattı HUVEC hücrelerindeki antikanser etkilerini incelediklerinde, OOEO'nun proliferasyonu baskıladığı apoptozu indüklediğini saptamışlardır (Gndogan & Nath, 2021). Bostancıoğlu ve ark., Origanum onites L.'nin sıçan adipoz doku endotel hücrelerinde ve c-H-ras transforme sıçan embriyonik fibroblast hücrelerinde (5RP7), tümör kütlesinde damar oluşumunu inhibe etme, migrasyon, apoptoz ve proliferasyon üzerinde etkisini incelediklerinde, OOEO'nun 5RP7 hücrelerinde hücre canlılığını, tp oluşumu ve migrasyonu inhibe ettiğini, apoptozu indüklediğini saptamışlardır (Bostancıoğlu et al., 2012). zkan ve arkadaşları, OOEO ve iki ana fenolik bileşenin (karvakrol ve timol), hepatoma G2 (HepG2) hücrelerinde hücre canlılığı ve hidrojen peroksit tarafından indüklenen sitotoksositeye ve membran hasarına karşı sitoprotektif etkilerini araştırdıklarında; OOEO'nun yüksek konsantrasyonlarda kanser hücre canlılığını azalttığı, fakat OOEO'nun karvakrol ve timol'n tek uygulamalarına kıyasla daha az sitotoksik olduğu, hidrojen peroksite maruz bırakılan hücrelerde malondialdehit seviyesi artarken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulamasından önce hücrelerin OOEO, karvakrol ve timol ile muamelesinin malondialdehit seviyesini azalttığı, OOEO'nun DPPH radikal yakalama aktivitesinin tek karvakrol yada timol uygulamasına kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır (zkan & Erdoğan, 2011). Becer ve arkadaşları, OOEO, karvakrol ve p-simenin HCT116 ve HepG2 hücreleri üzerindeki sitotoksosite ve hücresele antioksidan etkilerini incelediklerinde, her üç gruptan da 400 g/ml konsantrasyonda uygulama sonrasında karvakrolün hücresele antioksidan aktivitesinin O. onites esansiyel yağından ve p-simeninden daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Becer et al., 2022). Spyridopoulou ve ark., OOEO'nun melanom hücreleri (A375), meme kanseri hücreleri (MCF-7), hepatoselüler karsinom

hücreleri (HepG2) ve kolon kanseri hücrelerinde (HT-29), en fazla HT-29'un proliferasyonunu azalttığını bulmuş ve çalışmanın devamında OOEO'nın HT-29 ve fare kolon kanser hücresi olan CT26'da antimigratif ve proapoptotik aktivite sergilediğini bulmalarının ardından, BALB/c deneysel fare modelinde yağın profilaktik oral uygulamasını gerçekleştirmiş ve tümör kütlelerinde %52 oranında bir azalma olduğunu saptamışlardır (Spyridopoulou et al., 2019).

### **3.3. Kekiiğinin epigenetik aktivitesi**

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, mide kanserinde gerçekleşen epigenetik değişikliklerin hastalık progresyonuna seyirci kalan faktörler olmadığı bunun aksine, aktif mekanizmalar yoluyla karsinogenezi teşvik ettiğini gösterilmiştir. Hatta MK premalign lezyonlarda aberrant DNA metilasyonunun bulunması, epigenetik değişikliklerin MK'nde karsinogenez sürecinde itici güç olduğu ortaya çıkarılmıştır (Padmanabhan et al., 2017). Dolayısıyla özellikle mide kanserindeki spesifik epigenetik değişiklikleri hedeflemek, progresyonsuz sağkalımı arttırmak için terapötik bir yaklaşım olabilir. Fakat kekiğin kanserde epigenetik modifikasyonları değiştirme potansiyelini gösteren sınırlı sayıda araştırma gerçekleştirilmiştir. Bu araştırmalardan birinde 2012 yılında Bozkurt ve arkadaşları, Thymus serpyllum'un meme kanseri hücrelerinde programlı hücre ölümü ve epigenetik değişiklikler üzerine etkisini incelemişlerdir. T. Serpyllum'un DNMT1 ve HDAC1 enzim aktivitelerini eliza yöntemi kullanarak inhibe ettiğini bulmuşlar ve her iki genin de ekspresyonunun sırasıyla 2,4 ve 1,8 kat azaldığını tespit etmişlerdir (Bozkurt et al., 2012). Bir diğer araştırmada 2019 yılında Kubatka ve arkadaşları, kurutulmuş T. vulgaris (sap kısmı), kimyasal olarak indüklenen bir sıçan meme karsinomu modelinde ve sinjeneik bir 4T1 fare modelinde diyetle %0,1 ve %1'lik iki konsantrasyonda sürekli olarak uygulayarak, ATM, PTEN, RASSF1 ve TIMP3 promotör bölgesinin metilasyonunun

azaldığını saptamışlardır. Ayrıca sıçan tümörlerinde H3K4me3'ün lizin metilasyon durumunda bir azalma saptarken, H3K9me3, H4K20me3 ve H4K16as değişmediğini belirlemişlerdir (Kubatka et al., 2019).

#### **4. SONUÇ VE GELECEK PERSPEKTİFLER**

Mide kanseri, yüksek mortalite oranları, belirgin moleküler heterojenitesi ve sınırlı erken tanı olanakları nedeniyle günümüzde önemli bir klinik ve bilimsel sorun olmayı sürdürmektedir. Hastalığın patogeneğinde genetik mutasyonların yanı sıra DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve kodlanmayan RNA'lar aracılığıyla gerçekleşen epigenetik düzenleyici mekanizmaların merkezi bir rol oynadığı açıkça ortaya konmuştur. Bu epigenetik değişiklikler, tümör baskılayıcı genlerin susturulmasına ve onkogenlerin aktivasyonuna katkı sağlayarak mide kanserinin çevresel faktörlerle yakından ilişkili bir hastalık olarak değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

Epigenetik değişikliklerin geri dönüşümlü doğası, mide kanseri tedavisinde yeni yaklaşımlar için önemli bir potansiyel sunmaktadır. DNMT ve HDAC inhibitörleri gibi epigenetik hedefli ajanlar, özellikle kemoterapiye dirençli olgularda umut verici seçenekler olarak değerlendirilmekle birlikte, sınırlı etkinlikleri nedeniyle kombine tedavi stratejilerine olan gereksinimi de ortaya koymaktadır. Bu bağlamda, doğal bileşiklerin çoklu moleküler yolları hedefleyebilme ve düşük toksisite profilleri nedeniyle epigenetik düzenleyici ajanlar olarak öne çıktığı görülmektedir.

Akdeniz florasının önemli bir üyesi olan *Origanum onites* L. (Türk kekiği), zengin fitokimyasal içeriği ve özellikle karvakrol ile timol gibi fenolik bileşenleri sayesinde antikanser araştırmalarında dikkat çekmektedir. Bu bileşiklerin antiproliferatif, apoptotik ve antioksidan etkileri farklı kanser

modellerinde gösterilmiş olup, son veriler epigenetik mekanizmalar üzerinde de dñzenleyici etkilere sahip olabileceklerini dñřündürmektedir. Her ne kadar mide kanserine özgñ epigenetik etkileri doğrudan inceleyen çalışmalar sınırlı olsa da, mevcut bulgular *Origanum onites* L. yağının bu alanda gñçlü bir aday olabileceğine işaret etmektedir.

Gelecek perspektifler açısından, *Origanum onites* L. yağının mide kanserindeki potansiyel rolñnñ netleştirilebilmesi için *in vitro* ve *in vivo* modellerde epigenetik hedeflerin ayrıntılı biçimde incelenmesi gerekmektedir. Ayrıca, biyoyararlanım, farmakokinetik özellikler ve gñvenlilik profiline yñnelik çalışmaların yanı sıra standartlaştırılmış preparatların geliştirilmesi, translasyonel araştırmalar açısından bñyñk ÷nem taşımaktadır. Uzun vadede, epigenetik biyobelirteçler ile desteklenen kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarında *Origanum onites* L. yağının tamamlayıcı bir ajan olarak değerlendirilmesi mñmkñn olabilir.

Sonuç olarak, mide kanserinin epigenetik temellerinin anlaşılması yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından kritik ÷neme sahiptir. *Origanum onites* L. yağı, biyolojik ve epigenetik dñzenleyici özellikleriyle mide kanserinin önlenmesi ve tedavisinde umut vadeden doğal bir kaynak olarak ÷ne çıkmaktadır.

## **TEŐEKKÜR**

Bu çalışma 23451 numaralı Ege ÷niversitesi Rektñrlñđñ Genel Araştırma Projesi (GAP) birimi tarafından desteklenmiştir.

## **KAYNAKÇA**

- Alshammari, E., Zhang, Y., Sobota, J., & Yang, Z. (2022). Aberrant DNA Methylation of Tumor Suppressor Genes and Oncogenes as Cancer Biomarkers. *Genomic and Epigenomic Biomarkers of Toxicology and Disease: Clinical and Therapeutic Actions*, 251–271. <https://doi.org/10.1002/9781119807704.CH12;SUBPAGE:STRING:ABSTRACT;WEBSITE:WEBSITE:PERICLES;ISSUE:ISSUE:DOI>
- Alsina, M., Arrazubi, V., Diez, M., & Tabernero, J. (2022). Current developments in gastric cancer: from molecular profiling to treatment strategy. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 2022 20:3, 20(3), 155–170. <https://doi.org/10.1038/s41575-022-00703-w>
- Azbergenov, N. K., Nurulla, T. A., Tulyayeva, A. B., Akhmetova, S. Z., Kereeva, N. M., Akanova, S. N., & Zhholmukhamedova, D. A. (2025). Trends and hot spots in research on the prognostic value of gastric cancer biomarkers in the context of the Lauren classification: a bibliometric analysis. *Frontiers in Medicine*, 12, 1612256. <https://doi.org/10.3389/FMED.2025.1612256/BIBTEX>
- Bass, A. J., Thorsson, V., Shmulevich, I., Reynolds, S. M., Miller, M., Bernard, B., Hinoue, T., Laird, P. W., Curtis, C., Shen, H., Weisenberger, D. J., Schultz, N., Shen, R., Weinhold, N., Kelsen, D. P., Bowlby, R., Chu, A., Kasaian, K., Mungall, A. J., ... Liu, J. (2014). Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* 2014 513:7517, 513(7517), 202–209. <https://doi.org/10.1038/nature13480>
- Becer, E., Mutlu Altundag, E., Başer, K. H. C., & Vatansever, H. S. (2022). Cytotoxic activity and antioxidant effects of *Origanum onites* essential oil and its two major contents,

carvacrol and p-cymene on human colorectal (HCT116) and hepatocellular carcinoma (HepG2) cell lines. *Journal of Essential Oil Research*, 34(6), 514–523. <https://doi.org/10.1080/10412905.2022.2107101>;PAGE: STRING:ARTICLE/CHAPTER

Bozkurt, E., Atmaca, H., Kisim, A., Uzunoglu, S., Uslu, R., & Karaca, B. (2012). Effects of *Thymus serpyllum* extract on cell proliferation, apoptosis and epigenetic events in human breast cancer Cells. *Nutrition and Cancer*, 64(8), 1245–1250.

<https://doi.org/10.1080/01635581.2012.719658>;JOURNAL:JOURNAL:HNUC20;REQUESTEDJOURNAL:JOURNAL:HNUC20;ISSUE:ISSUE:DOI

Bure, I. V., & Nemtsova, M. V. (2021). Methylation and Noncoding RNAs in Gastric Cancer: Everything Is Connected. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, Vol. 22, Page 5683, 22(11), 5683. <https://doi.org/10.3390/IJMS22115683>

Cai, Z., Yin, Y., Shen, C., Wang, J., Yin, X., Chen, Z., Zhou, Y., & Zhang, B. (2018). Comparative effectiveness of preoperative, postoperative and perioperative treatments for resectable gastric cancer: A network meta-analysis of the literature from the past 20 years. *Surgical Oncology*, 27(3), 563–574.

<https://doi.org/10.1016/J.SURONC.2018.07.011>

Cao, L., Ren, Y., Guo, X., Wang, L., Zhang, Q., Li, X., Wu, X., Meng, Z., & Xu, K. (2020). Downregulation of SETD7 promotes migration and invasion of lung cancer cells via JAK2/STAT3 pathway. *International Journal of Molecular Medicine*, 45(5), 1616–1626. <https://doi.org/10.3892/IJMM.2020.4523>

- CEYLAN, A., BAYRAM, E., & GEREN, H. (1999). Investigation on Agronomical and Quality Characteristics of Improved Clonnes in Origanum (*Origanum onites* L.) Breeding. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23(11), 1163–1168. <https://doi.org/>-
- Chen, L., Fei, Y., Zhao, Y., Chen, Q., Chen, P., & Pan, L. (2021). Expression and prognostic analyses of HDACs in human gastric cancer based on bioinformatic analysis. *Medicine (United States)*, 100(27). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000026554>
- Chen, P., Qian, Q., Zhu, Z., Shen, X., Yu, S., Yu, Z., Sun, R., Li, Y., Guo, D., & Fan, H. (2020). Increased expression of EHMT2 associated with H3K9me2 level contributes to the poor prognosis of gastric cancer. *Oncology Letters*, 20(2), 1734. <https://doi.org/10.3892/OL.2020.11694>
- Chen, Y., Ren, B., Yang, J., Wang, H., Yang, G., Xu, R., You, L., & Zhao, Y. (2020). The role of histone methylation in the development of digestive cancers: a potential direction for cancer management. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2020 5:1, 5(1), 143-. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00252-1>
- Chia, N. Y., & Tan, P. (2016). Molecular classification of gastric cancer. *Annals of Oncology*, 27(5), 763–769. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw040>
- Christodoulidis, G., Koumarelas, K. E., Kouliou, M. N., Thodou, E., & Samara, M. (2024). Gastric Cancer in the Era of Epigenetics. *International Journal of Molecular Sciences* 2024, Vol. 25, Page 3381, 25(6), 3381. <https://doi.org/10.3390/IJMS25063381>
- Corso, G., Carvalho, J., Marrelli, D., Vindigni, C., Carvalho, B., Seruca, R., Roviello, F., & Oliveira, C. (2013). Somatic

mutations and deletions of the e-cadherin gene predict poor survival of patients with gastric cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 31(7), 868–875. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.44.4612>;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER

- Costache, S., Sajin, M., Wedden, S., & D'arrigo, C. (2023). A consolidated working classification of gastric cancer for histopathologists (Review). *Biomedical Reports*, 19(3), 1–8. <https://doi.org/10.3892/BR.2023.1640>/ABSTRACT
- Deng, N., Goh, L. K., Wang, H., Das, K., Tao, J., Tan, I. B., Zhang, S., Lee, M., Wu, J., Lim, K. H., Lei, Z., Goh, G., Lim, Q. Y., Tan, A. L. K., Poh, D. Y. S., Riahi, S., Bell, S., Shi, M. M., Linnartz, R., ... Tan, P. (2012). A comprehensive survey of genomic alterations in gastric cancer reveals systematic patterns of molecular exclusivity and co-occurrence among distinct therapeutic targets. *Gut*, 61(5), 673–684. <https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2011-301839>
- Dong, C. X., Deng, D. J., Pan, K. F., Zhang, L., Zhang, Y., Zhou, J., & You, W. C. (2009). Promoter methylation of p16 associated with helicobacter pylori infection in precancerous gastric lesions: A population-based study. *International Journal of Cancer*, 124(2), 434–439. <https://doi.org/10.1002/IJC.23891>;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER
- Drnovsek, J., Homan, M., Zidar, N., & Smid, L. M. (2024). Pathogenesis and potential reversibility of intestinal metaplasia – a milestone in gastric carcinogenesis. *Radiology and Oncology*, 58(2), 186–195. <https://doi.org/10.2478/RAON-2024-0028>
- Dulak, A. M., Schumacher, S. E., Van Lieshout, J., Imamura, Y., Fox, C., Shim, B., Ramos, A. H., Saksena, G., Baca, S. C.,

- Baselga, J., Taberero, J., Barretina, J., Enzinger, P. C., Corso, G., Roviello, F., Lin, L., Bandla, S., Luketich, J. D., Pennathur, A., ... Bass, A. J. (2012). Gastrointestinal adenocarcinomas of the esophagus, stomach, and colon exhibit distinct patterns of genome instability and oncogenesis. *Cancer Research*, 72(17), 4383–4393. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-3893/650363/AM/GASTROINTESTINAL-ADENOCARCINOMAS-OF-THE-ESOPHAGUS>
- Fu, D. G. (2015). Epigenetic alterations in gastric cancer (review). *Molecular Medicine Reports*, 12(3), 3223–3230. <https://doi.org/10.3892/MMR.2015.3816/HTML>
- Ganesan, A., Arimondo, P. B., Rots, M. G., Jeronimo, C., & Berdasco, M. (2019). The timeline of epigenetic drug discovery: from reality to dreams. *Clinical Epigenetics* 2019 11:1, 11(1), 174-. <https://doi.org/10.1186/S13148-019-0776-0>
- Guan, W. L., He, Y., & Xu, R. H. (2023). Gastric cancer treatment: recent progress and future perspectives. *Journal of Hematology & Oncology* 2023 16:1, 16(1), 57-. <https://doi.org/10.1186/S13045-023-01451-3>
- Gündogan, G. I., & Nath, E. Ö. (2021). In vitro physiological effects of *Origanum onites* L. (Lamiaceae) essential oil treatment on human origin cell lines. *Turkish Journal of Botany*, 45(2), 158–171. <https://doi.org/10.3906/bot-2010-40>
- Hu, C., Liu, X., Zeng, Y., Liu, J., & Wu, F. (2021). DNA methyltransferase inhibitors combination therapy for the treatment of solid tumor: mechanism and clinical application. *Clinical Epigenetics* 2021 13:1, 13(1), 166-. <https://doi.org/10.1186/S13148-021-01154-X>

- Ikoma, H., Ichikawa, D., Koike, H., Ikoma, D., Tani, N., Okamoto, K., Ochiai, T., Ueda, Y., Otsuji, E., & Yamagishi, H. (2006). Correlation between Serum DNA Methylation and Prognosis in Gastric Cancer Patients. *Anticancer Research*, 26(3B), 2313–2316. <https://ar.iijournals.org/content/26/3B/2313>
- Iyer, P., Moslim, M., Farma, J. M., & Denlinger, C. S. (2020). Diffuse gastric cancer: histologic, molecular, and genetic basis of disease. *Translational Gastroenterology and Hepatology*, 5(0). <https://doi.org/10.21037/TGH.2020.01.02>
- Janjigian, Y. Y., Sanchez-Vega, F., Jonsson, P., Chatila, W. K., Hechtman, J. F., Ku, G. Y., Riches, J. C., Tuvy, Y., Kundra, R., Bouvier, N., Vakiani, E., Gao, J., Heins, Z. J., Gross, B. E., Kelsen, D. P., Zhang, L., Strong, V. E., Schattner, M., Gerdes, H., ... Schultz, N. (2018). Genetic predictors of response to systemic therapy in esophagogastric cancer. *Cancer Discovery*, 8(1), 49–58. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-17-0787/333225/AM/GENETIC-PREDICTORS-OF-RESPONSE-TO-SYSTEMIC-THERAPY>
- Kaçar, O., Göksu, E., & Azkan, N. (2006). İzmir Kekiginde (*Origanum onites* L.) Farklı Sıklıkların Bazı Agronomik ve Kalite Özellikleri Üzerine Etkisinin Belirlenmesi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(2), 51–60. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/ziraatuludag/article/174149>
- Kagan, H. M., & Li, W. (2003). Lysyl oxidase: Properties, specificity, and biological roles inside and outside of the cell. *Journal of Cellular Biochemistry*, 88(4), 660–672. <https://doi.org/10.1002/JCB.10413;REQUESTEDJOURNAL:JOURNAL:10974644;ISSUE:ISSUE:DOI>

- Kim, M. S., Li, S. H., Yoo, N. J., & Lee, S. H. (2013). Frameshift mutations of tumor suppressor gene EP300 in gastric and colorectal cancers with high microsatellite instability. *Human Pathology*, 44(10), 2064–2070. <https://doi.org/10.1016/J.HUMPATH.2012.11.027>
- Kimura, H., Hayashi-Takanaka, Y., Goto, Y., Takizawa, N., & Nozaki, N. (2008). The Organization of Histone H3 Modifications as Revealed by a Panel of Specific Monoclonal Antibodies. *Cell Structure and Function*, 33(1), 61–73. <https://doi.org/10.1247/CSF.07035>
- Koparal, A. T., & Zeytinoglu, M. (2004). Effects of Carvacrol on a Human Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Cell Line, A549. *Cytotechnology* 2003 43:1, 43(1), 149–154. <https://doi.org/10.1023/B:CYTO.0000039917.60348.45>
- Ksiaa, F., Ziadi, S., Amara, K., Korbi, S., & Trimeche, M. (2009). Biological significance of promoter hypermethylation of tumor-related genes in patients with gastric carcinoma. *Clinica Chimica Acta*, 404(2), 128–133. <https://doi.org/10.1016/J.CCA.2009.03.044>
- Kubatka, P., Uramova, S., Kello, M., Kajo, K., Samec, M., Jasek, K., Vybohova, D., Liskova, A., Mojzis, J., Adamkov, M., Zubor, P., Smejkal, K., Svajdlenka, E., Solar, P., Samuel, S. M., Zulli, A., Kassayova, M., Lasabova, Z., Kwon, T. K., ... Büsselberg, D. (2019). Anticancer Activities of *Thymus vulgaris* L. in Experimental Breast Carcinoma In Vivo and In Vitro. *International Journal of Molecular Sciences* 2019, Vol. 20, Page 1749, 20(7), 1749. <https://doi.org/10.3390/IJMS20071749>
- Kuwata, T. (2024). Molecular classification and intratumoral heterogeneity of gastric adenocarcinoma. *Pathology International*, 74(6), 301–316.

<https://doi.org/10.1111/PIN.13427>;PAGEGROUP:STRING:PUBLICATION

- Kwon, O. H., Park, J. L., Kim, M., Kim, J. H., Lee, H. C., Kim, H. J., Noh, S. M., Song, K. S., Yoo, H. S., Paik, S. G., Kim, S. Y., & Kim, Y. S. (2011). Aberrant up-regulation of LAMB3 and LAMC2 by promoter demethylation in gastric cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 406(4), 539–545. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2011.02.082>
- Li, M., Cao, S., & Xu, R. H. (2025). Global trends and epidemiological shifts in gastrointestinal cancers: insights from the past four decades. *Cancer Communications*, 45(7), 774–788. <https://doi.org/10.1002/CAC2.70017>;JOURNAL:JOURNAL:25233548;WGROUPE:STRING:PUBLICATION
- Lima, E. M., Leal, M. F., Motta, F. J. N., De Assumpção, P. P., Harada, M. L., Smith, M. D. A. C., Burbano, R. R., & Casartelli, C. (2007). Estudio del Estado de Metilación de Novo de Genes Metiltransferasas y su Correlación con el Patrón de Metilación de RUNX3 en Individuos con Cáncer Gástrico de la Región Norte del Brasil. *International Journal of Morphology*, 25(4), 817–824. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022007000400022>
- Lin, J. L., Lin, J. X., Lin, G. T., Huang, C. M., Zheng, C. H., Xie, J. W., Wang, J. Bin, Lu, J., Chen, Q. Y., & Li, P. (2024). Global incidence and mortality trends of gastric cancer and predicted mortality of gastric cancer by 2035. *BMC Public Health* 2024 24:1, 24(1), 1763-. <https://doi.org/10.1186/S12889-024-19104-6>
- Lin, X., Zhao, Y., Song, W. M., & Zhang, B. (2015). Molecular classification and prediction in gastric cancer.

- Computational and Structural Biotechnology Journal, 13, 448–458. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2015.08.001>
- Liu, Y. wen, Xia, R., Lu, K., Xie, M., Yang, F., Sun, M., De, W., Wang, C., & Ji, G. (2017). LincRNAFEZF1-AS1 represses p21 expression to promote gastric cancer proliferation through LSD1-Mediated H3K4me2 demethylation. *Molecular Cancer* 2017 16:1, 16(1), 39-. <https://doi.org/10.1186/S12943-017-0588-9>
- Lordick, F., Carneiro, F., Cascinu, S., Fleitas, T., Haustermans, K., Piessen, G., Vogel, A., & Smyth, E. C. (2022). Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, 33(10), 1005–1020. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.07.004>
- Machado, J. C., Oliveira, C., Carvalho, R., Soares, P., Berx, G., Caldas, C., Seruca, R., Carneiro, F., & Sobrinho-Simões, M. (2001). E-cadherin gene (CDH1) promoter methylation as the second hit in sporadic diffuse gastric carcinoma. *Oncogene*, 20(12), 1525–1528. <https://doi.org/10.1038/SJ.ONC.1204234;KWRD>
- Machlowska, J., Baj, J., Sitarz, M., Maciejewski, R., & Sitarz, R. (2020). Gastric Cancer: Epidemiology, Risk Factors, Classification, Genomic Characteristics and Treatment Strategies. *International Journal of Molecular Sciences* 2020, Vol. 21, Page 4012, 21(11), 4012. <https://doi.org/10.3390/IJMS21114012>
- Mariette, C., Carneiro, F., Grabsch, H. I., van der Post, R. S., Allum, W., de Manzoni, G., Luca, B. G., Maria, B., Jean-Francois, F., Uberto, F., Arnulf, H., Mar, I., Daniele, M., Stephan, M., Paolo, M., Manuel, P., Guillaume, P., Daniel, R., Florence, R., ... Giuseppe, Z. (2018). Consensus on the pathological definition and

- classification of poorly cohesive gastric carcinoma. *Gastric Cancer* 2018 22:1, 22(1), 1–9. <https://doi.org/10.1007/S10120-018-0868-0>
- Marin, J. J. G., Al-Abdulla, R., Lozano, E., Briz, O., Bujanda, L., Banales, J. M., & Macias, R. I. R. (2016). Mechanisms of Resistance to Chemotherapy in Gastric Cancer. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 16(3), 318–334. <https://doi.org/10.2174/1871520615666150803125121>
- Matsusaka, K., Kaneda, A., Nagae, G., Ushiku, T., Kikuchi, Y., Hino, R., Uozaki, H., Seto, Y., Takada, K., Aburatani, H., & Fukayama, M. (2011). Classification of Epstein-Barr virus-positive gastric cancers by definition of DNA methylation epigenotypes. *Cancer Research*, 71(23), 7187–7197. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-1349/649919/AM/CLASSIFICATION-OF-EPSTEIN-BARR-VIRUS-POSITIVE>
- Meng, X., Zhao, Y., Liu, J., Wang, L., Dong, Z., Zhang, T., Gu, X., & Zheng, Z. (2019). Comprehensive analysis of histone modification associated genes on differential gene expression and prognosis in gastric cancer. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 18(3), 2219–2230. <https://doi.org/10.3892/ETM.2019.7808>
- Mensah, I. K., Norvil, A. B., Alabdi, L., McGovern, S., Petell, C. J., He, M., & Gowher, H. (2021). Misregulation of the expression and activity of DNA methyltransferases in cancer. *NAR Cancer*, 3(4). <https://doi.org/10.1093/NARCAN/ZCAB045>
- Morgan, E., Arnold, M., Camargo, M. C., Gini, A., Kunzmann, A. T., Matsuda, T., Meheus, F., Verhoeven, R. H. A., Vignat, J., Laversanne, M., Ferlay, J., & Soerjomataram, I. (2022). The current and future incidence and mortality of gastric cancer in 185 countries, 2020–40: A population-

based modelling study. *EClinicalMedicine*, 47, 101404.  
<https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2022.101404>

Moufarrij, S., Srivastava, A., Gomez, S., Hadley, M., Palmer, E., Austin, P. T., Chisholm, S., Roche, K., Yu, A., Li, J., Zhu, W., Lopez-Acevedo, M., Villagra, A., & Chiappinelli, K. B. (2020). Combining DNMT and HDAC6 inhibitors increases anti-tumor immune signaling and decreases tumor burden in ovarian cancer. *Scientific Reports* 2020 10:1, 10(1), 3470-. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60409-4>

Nagtegaal, I. D., Odze, R. D., Klimstra, D., Paradis, V., Rugge, M., Schirmacher, P., Washington, K. M., Carneiro, F., & Cree, I. A. (2020). The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology*, 76(2), 182–188.  
<https://doi.org/10.1111/HIS.13975>;ISSUE:ISSUE:DOI

Ocaña-Paredes, B., Rivera-Orellana, S., Ramírez-Sánchez, D., Montalvo-Guerrero, J., Freire, M. P., Espinoza-Ferrao, S., Altamirano-Colina, A., Echeverría-Espinoza, P., Ramos-Medina, M. J., Echeverría-Garcés, G., Granda-Moncayo, D., Jácome-Alvarado, A., Andrade, M. G., & López-Cortés, A. (2024). The pharmacoepigenetic paradigm in cancer treatment. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1381168.  
<https://doi.org/10.3389/FPHAR.2024.1381168>/FULL

Onoyama, T., Ishikawa, S., & Isomoto, H. (2022). Gastric cancer and genomics: review of literature. *Journal of Gastroenterology* 2022 57:8, 57(8), 505–516.  
<https://doi.org/10.1007/S00535-022-01879-3>

Ooki, A., & Yamaguchi, K. (2022). The dawn of precision medicine in diffuse-type gastric cancer. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 14.

<https://doi.org/10.1177/17588359221083049>;WEBSITE:  
WEBSITE:SAGE;WGROU:STRING:PUBLICATION

- Özer, Z. (2020). Chemical Composition and Antioxidant Activities of Leaf and Flower Essential Oils of *Origanum onites* L. Growing in Mount Ida-Turkey. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 7(3), 813–820. <https://doi.org/10.18596/JOTCSA.780334>
- Özkan, A., & Erdoğan, A. (2011). A comparative evaluation of antioxidant and anticancer activity of essential oil from *Origanum onites* (Lamiaceae) and its two major phenolic components. *Turkish Journal of Biology*, 35(6), 735–742. <https://doi.org/10.3906/biy-1011-170>
- Padmanabhan, N., Ushijima, T., & Tan, P. (2017). How to stomach an epigenetic insult: the gastric cancer epigenome. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 2017 14:8, 14(8), 467–478. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.53>
- Payne, S. L., Hendrix, M. J. C., & Kirschmann, D. A. (2007). Paradoxical roles for lysyl oxidases in cancer - A prospect. *Journal of Cellular Biochemistry*, 101(6), 1338–1354. <https://doi.org/10.1002/JCB.21371>;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER
- Pectasides, E., Stachler, M. D., Derks, S., Liu, Y., Maron, S., Islam, M., Alpert, L., Kwak, H., Kindler, H., Polite, B., Sharma, M. R., Allen, K., O'Day, E., Lomnicki, S., Maranto, M., Kanteti, R., Fitzpatrick, C., Weber, C., Setia, N., ... Catenacci, D. V. (2018). Genomic heterogeneity as a barrier to precision medicine in gastroesophageal adenocarcinoma. *Cancer Discovery*, 8(1), 37–48. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-17-0395/333247/AM/GENOMIC-HETEROGENEITY-AS-A-BARRIER-TO-PRECISION>

- Purkait, S., Patra, S., Mitra, S., Behera, M. M., Panigrahi, M. K., Kumar, P., Kar, M., Hallur, V., & Chandra Samal, S. (2022). Elevated Expression of DNA Methyltransferases and Enhancer of Zeste Homolog 2 in *Helicobacter pylori* - Gastritis and Gastric Carcinoma. *Digestive Diseases*, 40(2), 156–167. <https://doi.org/10.1159/000516478>
- Ramaiah, M. J., Tangutur, A. D., & Manyam, R. R. (2021). Epigenetic modulation and understanding of HDAC inhibitors in cancer therapy. *Life Sciences*, 277, 119504. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2021.119504>
- Roth, S. Y., Denu, J. M., & Allis, C. D. (2001). Histone acetyltransferases. *Annual Review of Biochemistry*, 70(Volume 70, 2001), 81–120. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.BIOCHEM.70.1.81/CITE/REFWORKS>
- Saha, N., & Muntean, A. G. (2021). Insight into the multi-faceted role of the SUV family of H3K9 methyltransferases in carcinogenesis and cancer progression. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1875(1), 188498. <https://doi.org/10.1016/J.BBCAN.2020.188498>
- Salvatori, S., Marafini, I., Laudisi, F., Monteleone, G., & Stolfi, C. (2023). *Helicobacter pylori* and Gastric Cancer: Pathogenetic Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences* 2023, Vol. 24, Page 2895, 24(3), 2895. <https://doi.org/10.3390/IJMS24032895>
- Schneider, B. J., Shah, M. A., Klute, K., Ocean, A., Popa, E., Altorki, N., Lieberman, M., Schreiner, A., Yantiss, R., Christos, P. J., Palmer, R., You, D., Viale, A., Kermani, P., & Scandura, J. M. (2017). Phase I study of epigenetic priming with azacitidine prior to standard neoadjuvant chemotherapy for patients with resectable gastric and esophageal adenocarcinoma: Evidence of tumor

hypomethylation as an indicator of major histopathologic response. *Clinical Cancer Research*, 23(11), 2673–2680. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-1896/128972/AM/PHASE-I-STUDY-OF-EPIGENETIC-PRIMING-WITH>

Shang, W., Wang, Yue, Liang, X., Li, T., Shao, W., Liu, F., Cui, X., Wang, Yuanyuan, Lv, L., Chai, L., Qu, L., Zheng, L., & Jia, J. (2021). SETDB1 promotes gastric carcinogenesis and metastasis via upregulation of CCND1 and MMP9 expression. *Journal of Pathology*, 253(2), 148–159. <https://doi.org/10.1002/PATH.5568>;JOURNAL:JOURNAL:15552039;WGROU:STRING:PUBLICATION

Shi, H., Wang, H., Pan, J., Liu, Z., & Li, Z. (2022). Comparing prognostic value of preoperative platelet indexes in patients with resectable gastric cancer. *Scientific Reports* 2022 12:1, 12(1), 6480-. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10511-6>

Shi, W.-J., & Gao, J.-B. (2016). Molecular mechanisms of chemoresistance in gastric cancer. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 8(9), 673–681. <https://doi.org/10.4251/wjgo.v8.i9.673>

Skvortsova, K., Stirzaker, C., & Taberlay, P. (2019). The DNA methylation landscape in cancer. *Essays in Biochemistry*, 63(6), 797–811. <https://doi.org/10.1042/EBC20190037>

Smyth, E. C., Nilsson, M., Grabsch, H. I., van Grieken, N. C., & Lordick, F. (2020). Gastric cancer. *The Lancet*, 396(10251), 635–648. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31288-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31288-5)

Sogutlu, F., Pekerbas, M., & Biray Avci, C. (2022). Epigenetic signatures in gastric cancer: current knowledge and future perspectives. *Expert Review of Molecular Diagnostics*,

22(12), 1063–1075.  
<https://doi.org/10.1080/14737159.2022.2159381>;JOURNAL:JOURNAL:IERO20;SUBPAGE:STRING:ACCESS

Sohn, B. H., Hwang, J. E., Jang, H. J., Lee, H. S., Oh, S. C., Shim, J. J., Lee, K. W., Kim, E. H., Yim, S. Y., Lee, S. H., Cheong, J. H., Jeong, W., Cho, J. Y., Kim, J., Chae, J., Lee, J., Kang, W. K., Kim, S., Noh, S. H., ... Lee, J. S. (2017). Clinical significance of four molecular subtypes of gastric cancer identified by The Cancer Genome Atlas project. *Clinical Cancer Research*, 23(15), 4441–4449. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-2211/8678/P/CLINICAL-SIGNIFICANCE-OF-FOUR-MOLECULAR-SUBTYPES>

Spyridopoulou, K., Fitsiou, E., Bouloukosta, E., Tiptiri-Kourpeti, A., Vamvakias, M., Oreopoulou, A., Papavassilopoulou, E., Pappa, A., & Chlichlia, K. (2019). Extraction, Chemical Composition, and Anticancer Potential of *Origanum onites* L. Essential Oil. *Molecules* 2019, Vol. 24, Page 2612, 24(14), 2612. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES24142612>

Sun, X., Huang, X., Lu, X., Wang, N., Wu, D., Yuan, M., Yin, H., & Wang, Q. (2021). The expression and clinical significance of the tRNA aspartic acid methyltransferase 1 protein in gastric cancer. *International Journal of Clinical Oncology*, 26(12), 2229–2236. <https://doi.org/10.1007/S10147-021-02019-2>

Tang, S. Y., Zhou, P. J., Meng, Y., Zeng, F. R., & Deng, G. T. (2022). Gastric cancer: An epigenetic view. [Http://Www.Wjgnet.Com/](http://www.Wjgnet.Com/), 14(1), 90–109. <https://doi.org/10.4251/WJGO.V14.I1.90>

Tepe, B., Cakir, A., & Sihoglu Tepe, A. (2016). Medicinal Uses, Phytochemistry, and Pharmacology of *Origanum onites*

(L.): A Review. *Chemistry and Biodiversity*, 13(5), 504–520.

<https://doi.org/10.1002/CBDV.201500069>;ISSUE:ISSUE:DOI

- van der Post, R. S., Vogelaar, I. P., Carneiro, F., Guilford, P., Huntsman, D., Hoogerbrugge, N., Caldas, C., Chelcun Schreiber, K. E., Hardwick, R. H., Ausems, M. G. E. M., Bardram, L., Benusiglio, P. R., Bisseling, T. M., Blair, V., Bleiker, E., Boussioutas, A., Cats, A., Coit, D., DeGregorio, L., ... Fitzgerald, R. C. (2015). Hereditary diffuse gastric cancer: updated clinical guidelines with an emphasis on germline CDH1 mutation carriers. *Journal of Medical Genetics*, 52(6), 361–374. <https://doi.org/10.1136/JMEDGENET-2015-103094>
- Vogelstein, B., & Kinzler, K. W. (2004). Cancer genes and the pathways they control. *Nature Medicine* 2004 10:8, 10(8), 789–799. <https://doi.org/10.1038/nm1087>
- Wang, X., Dong, Y., Zhang, H., Zhao, Y., Miao, T., Mohseni, G., Du, L., & Wang, C. (2024). DNA methylation drives a new path in gastric cancer early detection: Current impact and prospects. *Genes & Diseases*, 11(2), 847–860. <https://doi.org/10.1016/J.GENDIS.2023.02.038>
- Wang, Y., Liu, H., Zhang, M., Xu, J., Zheng, L., Liu, P., Chen, J., Liu, H., & Chen, C. (2024). Epigenetic reprogramming in gastrointestinal cancer: biology and translational perspectives. *MedComm*, 5(9), e670. <https://doi.org/10.1002/MCO2.670>;SUBPAGE:STRING:FULL
- Webb, T., Craigan, C., & Ciulli, A. (2022). Targeting epigenetic modulators using PROTAC degraders: Current status and future perspective. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*

Letters, 63, 128653.  
<https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2022.128653>

Xu, Z., Xia, Y., Xiao, Z., Jia, Y., Li, L., Jin, Y., Zhao, Q., Wan, L., Yi, T., Yu, Y., Wen, Q., Zhu, Y., Qin, B., Zhang, F., & Shen, J. (2019). Comprehensive profiling of JMJD3 in gastric cancer and its influence on patient survival. *Scientific Reports* 2019 9:1, 9(1), 868-.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-37340-w>

Yamamoto, H., Watanabe, Y., Maehata, T., Morita, R., Yoshida, Y., Oikawa, R., Ishigooka, S., Ozawa, S. I., Matsuo, Y., Hosoya, K., Yamashita, M., Taniguchi, H., Nosho, K., Suzuki, H., Yasuda, H., Shinomura, Y., & Itoh, F. (2014). An updated review of gastric cancer in the next-generation sequencing era: Insights from bench to bedside and vice versa. *World Journal of Gastroenterology*, 20(14), 3927–3937. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i14.3927>

Yang, H., Yang, W. J., & Hu, B. (2022). Gastric epithelial histology and precancerous conditions. [Http://www.Wjgnet.Com/](http://www.Wjgnet.Com/), 14(2), 396–412.  
<https://doi.org/10.4251/WJGO.V14.I2.396>

Yoo, C., Ryu, M. H., Na, Y. S., Ryoo, B. Y., Lee, C. W., & Kang, Y. K. (2016). Vorinostat in combination with capecitabine plus cisplatin as a first-line chemotherapy for patients with metastatic or unresectable gastric cancer: phase II study and biomarker analysis. *British Journal of Cancer* 2016 114:11, 114(11), 1185–1190.  
<https://doi.org/10.1038/bjc.2016.125>

Yoo, C., Ryu, M. H., Na, Y. S., Ryoo, B. Y., Lee, C. W., Maeng, J., Kim, S. Y., Koo, D. H., Park, I., & Kang, Y. K. (2013). Phase I and pharmacodynamic study of vorinostat combined with capecitabine and cisplatin as first-line chemotherapy in advanced gastric cancer. *Investigational*

New Drugs 2013 32:2, 32(2), 271–278.  
<https://doi.org/10.1007/S10637-013-9983-2>

Zavros, Y., & Merchant, J. L. (2022). The immune microenvironment in gastric adenocarcinoma. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 2022 19:7, 19(7), 451–467. <https://doi.org/10.1038/s41575-022-00591-0>

Zeynali, P., Teimouri, H., Hashemi, S. M. A., Ebrahimian, A., Faraji, S. N., Sakhaei, S., & Behboudi, E. (2024). Epstein-Barr Virus and Helicobacter pylori as Two Main Risk Factors in Gastric Cancer. *OBM Genetics* 2024, Vol. 8, 272, 8(4), 1–25.  
<https://doi.org/10.21926/OBM.GENET.2404272>

Zeytinoglu, H., Incesu, Z., & Baser, K. H. C. (2003). Inhibition of DNA synthesis by Carvacrol in mouse myoblast cells bearing a human N-RAS oncogene. *Phytomedicine*, 10(4), 292–299.  
<https://doi.org/10.1078/094471103322004785>

Zhang, G., Xu, Y., Wang, S., Gong, Z., Zou, C., Zhang, H., Ma, G., Zhang, W., & Jiang, P. (2019). LncRNA SNHG17 promotes gastric cancer progression by epigenetically silencing of p15 and p57. *Journal of Cellular Physiology*, 234(4), 5163–5174.  
<https://doi.org/10.1002/JCP.27320>;CTYPE:STRING:JOURNAL

# **EPIDEMIOLOGY, RISK FACTORS, AND MOLECULAR MECHANISMS IN PANCREATIC CARCINOGENESIS**

**Sena ŞEN<sup>1</sup>**

## **1. INTRODUCTION**

Pancreatic cancer is characterized by an exceptionally poor clinical outcome and arises through a multifactorial process involving both genetic alterations and epigenetic dysregulation (Neureiter, Jager, Ocker, & Kiesslich, 2014). Despite not being among the most frequently diagnosed malignancies worldwide, it contributes disproportionately to cancer-related mortality. Recent global cancer statistics (GLOBOCAN 2022) indicate that pancreatic cancer ranks relatively lower in incidence but remains one of the leading causes of cancer death, reflecting its aggressive biological behavior and limited therapeutic responsiveness. Incidence and mortality rates appear to be comparable between men and women (Brayvd. , 2024). The development of pancreatic cancer is influenced by a combination of inherited susceptibility and environmental exposures. Established modifiable risk factors include tobacco use, excessive alcohol intake, obesity, diabetes mellitus, and chronic pancreatitis. In addition, a family history of pancreatic cancer significantly increases disease risk. Several hereditary cancer syndromes are also implicated in pancreatic tumorigenesis, including hereditary breast and ovarian cancer syndrome, von Hippel–Lindau syndrome, Peutz–Jeghers

---

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

syndrome, and hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC) (Capasso vd. , 2018).

## **2. ENVIRONMENTAL RISK FACTORS**

Among the environmental determinants associated with pancreatic cancer risk, tobacco use, dietary patterns, alcohol consumption, and high-calorie intake have been identified. A substantial body of epidemiological data has identified cigarette smoking as one of the strongest risk factors. Large cohort and case–control studies have consistently demonstrated that current smokers have approximately a 2-fold increased risk of developing pancreatic cancer (Lowenfels, Maisonneuve, & Whitcomb, 2000; Rebours, Levy, & Ruzsnewski, 2012). According to previous studies, the proportion of pancreatic cancer–related deaths attributable to smoking ranges from 11% to 32% (Maisonneuve & Lowenfels, 2015). Evidence from multiple cohort and case–control studies shows that smokers have at least a 1.5-fold higher risk of developing pancreatic cancer compared to non-smokers (Bosetti vd. , 2012; Duell vd. , 2002; Farrow & Davis, 1990; Ghadirian, Simard, & Baillargeon, 1991; S. M. Lynch vd. , 2009; Mack, Yu, Hanisch, & Henderson, 1986; Nothlings vd. , 2005; Silverman vd. , 1994). This increased risk correlates with the intensity of tobacco exposure and is especially pronounced in heavy smokers with homozygous deletions of the gene encoding Glutathione S-transferase Theta 1 (GSTT1) (Duell vd., 2002). A study evaluating the impact of smoking cessation found that active smokers had a 2.5 times higher risk of pancreatic cancer. After quitting smoking, the risk declined by approximately 48% within two years and approached the level of never-smokers after 10–15 years (Fuchs vd. , 1996). It is estimated that smoking cessation could potentially reduce pancreatic cancer–related

mortality in the United States by about 25% (Fuchsvd., 1996; Silvermanvd., 1994).

Accumulating epidemiological evidence indicates that excess body weight and sedentary lifestyle contribute significantly to pancreatic cancer risk. Prospective cohort and pooled analyses have demonstrated that increasing body mass index (BMI) is positively correlated with disease incidence (Arslanvd. , 2010; Carreras-Torresvd. , 2017; Stolzenberg-Solomonvd. , 2008). In particular, individuals classified as obese (BMI  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>) exhibit a markedly higher risk compared with those within the lower-normal BMI range (e.g.,  $< 23$  kg/m<sup>2</sup>). The association appears to follow a dose–response pattern, with incremental increases in BMI corresponding to progressively elevated relative risk estimates. Conversely, regular physical activity has been shown to exert a protective effect. Individuals engaging in moderate levels of exercise have been reported to experience substantially lower risk compared to physically inactive counterparts, highlighting the potential preventive role of lifestyle modification. Beyond disease occurrence, excess adiposity has also been linked to adverse clinical outcomes (Michaudvd. , 2001). Overweight and obese patients tend to receive a pancreatic cancer diagnosis at younger ages and have been observed to experience reduced overall survival following diagnosis. These findings underscore the dual impact of obesity on both pancreatic cancer development and prognosis (D. Livd. , 2009; Yuanvd. , 2013).

Findings regarding the relationship between diet and pancreatic cancer have been inconsistent. A “Western-style” dietary pattern, characterized by high intake of saturated fats and processed meats, was associated with pancreatic cancer in some studies (Larsson & Wolk, 2012; Nothlingsvd., 2005). In contrast, adherence to a healthy dietary pattern was shown to reduce the

risk of pancreatic cancer, with a particularly protective effect reported among overweight men (Aremvd. , 2013).

Conflicting evidence has also been reported regarding the impact of coffee and alcohol consumption on pancreatic cancer risk. Heavy alcohol intake was suggested to be associated with a modest increase in risk (Lucentefortevd. , 2012; Michaudvd. , 2010). However, the independent effect of alcohol has generally been difficult to determine, as it has often not been evaluated separately from tobacco use.

The relationship between *Helicobacter pylori* infection and pancreatic cancer has been investigated in multiple studies, with findings suggesting a modest yet statistically significant association (Trikudanathan, Philip, Dasanu, & Baker, 2011; Yuvd. , 2013). Pooled analyses, including meta-analytic data comprising over one thousand pancreatic cancer cases and nearly two thousand control subjects, have indicated that prior *H. pylori* exposure may be linked to an increased risk of pancreatic malignancy (Xiao, Wang, & Gao, 2013). Although the strength of this association appears limited, it has been proposed that chronic inflammation and systemic immune modulation may underlie the observed relationship. In addition, chronic viral infections have been examined as potential contributors to pancreatic carcinogenesis. Epidemiological studies have reported that infection with Hepatitis B virus (HBV) or Hepatitis C virus (HCV) may be associated with a heightened risk of pancreatic cancer. While the exact mechanisms remain incompletely understood, persistent viral infection, immune-mediated inflammation, and possible direct viral effects on pancreatic tissue have been suggested as contributing factors (Hassanvd. , 2008; Huang, Magnusson, Torner, Ye, & Duberg, 2013; Mahalevd. , 2017).

A substantial body of epidemiological research has established a link between diabetes mellitus and an increased risk of pancreatic cancer (Aggarwal, Kamada, & Chari, 2013; Batabyal, Vander Hoorn, Christophi, & Nikfarjam, 2014; Bosetti vd. , 2014; Huxley, Ansary-Moghaddam, Berrington de Gonzalez, Barzi, & Woodward, 2005). Multiple cohort and meta-analytic studies have consistently demonstrated that individuals with type 2 diabetes face approximately a twofold higher risk of developing pancreatic cancer compared with non-diabetic populations (Batabyal vd., 2014). This association appears to be particularly strong in cases of long-standing metabolic dysfunction. Emerging evidence further suggests that the underlying biological mechanisms may involve chronic hyperglycemia, hyperinsulinemia, and insulin resistance, all of which can promote mitogenic signaling, inflammation, and cellular proliferation within pancreatic tissue (Charivd. , 2008; Pannalavd. , 2008). These metabolic disturbances are therefore considered to play a contributory role in pancreatic tumorigenesis.

### **3. HEREDITARY RISK FACTORS**

A positive family history is observed in approximately 5–10% of patients diagnosed with pancreatic cancer, supporting the contribution of inherited susceptibility to disease development (Klein, Hruban, Brune, Petersen, & Goggins, 2001; Olson & Kurtz, 2013). Several hereditary cancer syndromes have been associated with an elevated risk of pancreatic malignancy, with the magnitude of risk varying according to the underlying genetic alteration and the extent of familial aggregation. In the general population, the lifetime risk of pancreatic cancer by the age of 70 is estimated to be around 0.5% (Al-Sukhni vd. , 2012). However, individuals carrying pathogenic variants in BRCA1 or BRCA2,

as seen in hereditary breast and ovarian cancer syndrome, demonstrate a 2- to 10-fold increase in risk, corresponding to an estimated lifetime risk of approximately 1–5% (Al-Sukhnivd., 2012). Similarly, an increased incidence of pancreatic cancer has been documented in individuals with Lynch syndrome, with cumulative risk estimates approaching 3–4%. Carriers of CDKN2A mutations, characteristic of familial atypical multiple mole melanoma syndrome, exhibit substantially higher risk levels, reported in the range of 10–19%. Pathogenic variants in PALB2 have also been associated with a markedly elevated lifetime risk of approximately 7–8%. Moreover, familial clustering significantly modifies disease probability; individuals with three or more first-degree relatives affected by pancreatic cancer may experience up to a 30-fold increase in risk compared with the general population (Grover & Syngal, 2010). Hereditary pancreatitis, associated with PRSS1 and SPINK1 mutations, confers a lifetime risk ranging from 25% to 44% (Reboursvd., 2012). Peutz-Jeghers syndrome, caused by mutations in STK11, is associated with a lifetime risk ranging from 11% to 55% (Wagnervd. , 2021). Furthermore, ataxia-telangiectasia related to ATM mutations (4–5%) (Lesueurvd. , 2022) and Li-Fraumeni syndrome associated with TP53 mutations (3–4%) (Aversavd. , 2020) have also been identified as genetic factors contributing to increased pancreatic cancer risk.

Some evidence suggests that germline mutations in pancreatic cancer susceptibility genes are not uncommon even without a strong family history (Grantvd. , 2015; Shindovd. , 2017). In one study, potentially pathogenic germline mutations were identified in 33 of 854 patients with pancreatic cancer. Of these, 31 mutations were reported in well-established pancreatic cancer-associated genes, including BRCA, ATM, PALB2, CDKN2A, and MLH1 (Shindovd., 2017).

Pancreatic exocrine carcinoma has been shown to arise through the combined effects of germline pathogenic variants and acquired somatic alterations affecting key cancer-related genes. Comprehensive genomic analyses, including large-scale sequencing of the coding regions of more than 20,000 genes in advanced pancreatic ductal adenocarcinoma samples, enabled a systematic identification of the principal signaling pathways recurrently altered during pancreatic tumor development (Jones vd. , 2008). Subsequent whole-genome and whole-exome sequencing efforts carried out by international collaborative initiatives, including the International Cancer Genome Consortium and The Cancer Genome Atlas, further refined the mutational landscape of pancreatic cancer and provided deeper insight into its underlying molecular architecture (Cancer Genome Atlas Research Network. Electronic address & Cancer Genome Atlas Research, 2017; Waddell vd. , 2015).

Among the deleterious germline mutation related with pancreatic cancer's risk, pathogenic mutations in BRCA1, BRCA2, PALB2, TP53, STK11, CDKN2A, MLH1, MSH2, MSH6, PRSS1, and SPINK1 were identified, and these variants were shown to markedly increase the risk of cancer development. In carriers of BRCA1 mutations, the risk of pancreatic cancer was reported to be increased by 2–3-fold (approximately 1.2% lifetime risk) (Hu, Hart, vd. , 2018; S. Livd. , 2022). In individuals with Lynch syndrome (MLH1, MSH2, MSH6), the risk was reported to be increased by 8–10-fold (3.7%) (Kastrinos vd. , 2009). Familial Atypical Multiple Mole Melanoma Syndrome associated with CDKN2A mutations was reported to confer a 13–36-fold increased risk (10–19%) (Kimura, Klein, Hruban, & Roberts, 2021). In carriers of *PALB2* mutations, the risk was reported to be increased by 15-fold (7–8%) (Hu, LaDuca, vd. , 2018), whereas in carriers of *TP53* mutations, a 7-fold increase in risk (3–4%) was reported (Redston vd. , 1994). In individuals with

Hereditary pancreatitis (PRSS1, SPINK1), the risk of pancreatic cancer was reported to be elevated by 50–82-fold, with a lifetime risk ranging between 25% and 44% (Greenhalfvd. , 2020; Zhan, Shelton, Greer, Brand, & Whitcomb, 2018). In Peutz-Jeghers syndrome (STK11), the risk was reported to increase by 75–125-fold, reaching a lifetime risk of 11–66% (Giardiellovd. , 2000; Satovd. , 2001). A substantially higher risk has also been observed among individuals with pancreatic cancer in first-degree relatives. In families with three affected first-degree relatives, the risk increases up to 32 times, translating into an estimated 40% lifetime probability (H. T. Lynchvd. , 1989; Zavoral, Minarikova, Zavada, Salek, & Minarik, 2011). These findings were considered to be of substantial clinical importance for the identification of high-risk individuals and the establishment of appropriate surveillance programs.

#### **4. PANCREATIC CARCINOGENESIS**

Genetic analyses conducted on small intraductal lesions of the pancreas demonstrated that pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN) lesions could serve as precursor lesions of invasive ductal adenocarcinoma (Hosodavd. , 2017). Following whole-exome sequencing of PanIN lesions and adjacent ductal adenocarcinomas, shared somatic pathogenic variants were identified in the majority of cases, supporting the hypothesis that PanIN lesions may progress to invasive ductal adenocarcinoma (Murphyvd. , 2013). In PanIN lesions, most of the somatic mutations detected in invasive ductal adenocarcinomas were also identified, and increased mutations were observed with increasing grades of dysplasia (Hosodavd., 2017; Hruban, Goggins, Parsons, & Kern, 2000). Somatic mutations in the KRAS gene were determined to represent the earliest genetic alterations, emerging in low-grade PanIN (PanIN-1) lesions.

Alterations in CDKN2A (p16) were found to occur in intermediate-grade (PanIN-2) lesions, whereas inactivation of SMAD4 and TP53 was shown to arise in high-grade PanIN (PanIN-3) lesions or at the stage of invasive carcinoma (Hosodavd., 2017). This genetic progression model was considered to provide a critical framework for the development of both chemoprevention strategies and early diagnostic approaches. Early molecular events were proposed to serve as potential targets for chemoprevention, whereas alterations occurring at later stages were suggested to have utility in early detection. Furthermore, this model was reported to play a main role in the development of genetically engineered animal models of pancreatic cancer (Pfluger, Brosens, & Hruban, 2024). In particular, recognition of somatic KRAS mutations as one of the earliest events in pancreatic tumorigenesis enabled the generation of murine models that closely recapitulated human disease through the introduction of mutant KRAS into the mouse pancreas (Hingoranıvd. , 2005).

Within the PanIN model, genetic alterations were reported to play a decisive role in key regulators of cellular signaling pathways, leading to widespread dysregulation of molecular systems governing cell growth, proliferation, apoptosis, and migration (Zavoralvd., 2011). Proto-oncogenes were defined as genes encoding positive regulators of cellular processes, including growth factors, signal transducers, transcription factors, and apoptosis inhibitors. Mutations in these genes were shown to generate oncogenes that remain constitutively active, thereby promoting uncontrolled cellular proliferation. Oncogenic mutations were described as having a dominant character, so alteration of a single allele was considered sufficient to produce significant cellular consequences (Dakalvd. , 2024). “In pancreatic carcinogenesis, proto-oncogenes such as KRAS, CTNNB1 ( $\beta$ -catenin), PIK3CA, and AKT1 are frequently

mutated. The most commonly observed mutation types include point mutations, deletions, gene amplifications, and genomic rearrangements. Conversely, tumor suppressor genes have been described as encoding inhibitors of cell proliferation signals, negative transcription factors, regulators of apoptosis, or components of DNA repair systems. Loss of function has been reported to result from alterations, such mutations are characterized as recessive, with functional inactivation generally requiring both alleles to be affected (Pelosi, Castelli, & Testa, 2017). The most commonly described mechanism is the “two-hit model,” in which one allele is initially mutated and the second allele is subsequently inactivated through mutation or complete loss (Serravd. , 1997). Moreover, hypermethylation of promoter regions has been reported as an alternative pathway leading to the silencing of tumor suppressor genes (Herman, Jen, Merlo, & Baylin, 1996). Proto-oncogenes that participate in key signaling pathways are among the genes most commonly altered in pancreatic cancer, including KRAS (85%) in the Ras/Raf/MAPK, CTNNB1 (24%) in the Wnt, and PIK3CA (5%) in the PTEN/PI3K/AKT cascades. Frequently altered tumor suppressor genes include TP53 (37%) in apoptotic cell cycle control, CDKN2A (29%) in cell cycle regulation, SMAD4 (22%), and APC (16%) in the Wnt signaling pathway (Bamfordvd. , 2004; Jackson, Lea, Rashid, Peddada, & Dunnick, 2006).

## **5. MOLECULAR CLASSIFICATION OF PANCREATIC CANCER**

By integrating genetic alterations identified in pancreatic tumors with tumor morphology and patient prognosis, the molecular classification of pancreatic neoplasms was initiated and progressively refined (Shi, Daniels, & Hruban, 2008). In nearly all solid pseudopapillary neoplasms, somatic mutations in

the CTNNB1 gene were identified; these mutations were suggested to account for the reduced intercellular cohesion observed in this tumor type (Wuvd. , 2011). Serous cystadenomas, which generally have a benign clinical course, were characterized by pathogenic variants in the VHL gene. These variants were reported to be acquired in sporadic cases and inherited in individuals with Von Hippel-Lindau disease (Wuvd., 2011). In intraductal papillary mucinous neoplasms (IPMNs), mutations in GNAS, RNF43, KRAS, TP53, and SMAD4 were frequently detected. In mucinous cystic neoplasms, recurrent mutations were reported in RNF43, KRAS, TP53, and SMAD4 (Wuvd., 2011). Intraductal oncocytic papillary neoplasms are characterized by specific translocations involving the PRKACA or PRKACB genes (Singhivd. , 2020). These findings demonstrate that each of the four principal cystic pancreatic neoplasms possesses a unique molecular signature (Wuvd., 2011), and molecular analysis of cyst fluid obtained during endoscopy was proposed to provide valuable guidance for clinical classification (Paniciavd. , 2023). In most undifferentiated pancreatic carcinomas, loss of CDH1 expression was observed, and the lack of E-cadherin has been reported to correlate with enhanced invasiveness and adverse prognostic features (Wintervd. , 2008). In undifferentiated carcinomas with rhabdoid features, loss of SMARCB1 (INI1) was reported (Agaimyv. , 2015). In most childhood pancreatoblastomas, loss of the maternal copy of chromosome 11p was identified; this finding was reported to indicate a shared biological basis with other pediatric tumors, such as Wilms tumor and hepatoblastoma, in which the same chromosomal alteration has been described (Abrahamvd. , 2001). Pancreatic neoplasms containing giant osteoclast-like cells were shown to harbor, within their pleomorphic cell populations, the same genetic alterations as those observed in epithelial precursors, leading to their reclassification as undifferentiated carcinomas (Abrahamvd.,

2001). More refined molecular subclassifications of pancreatic cancer were proposed based on gene expression profiling. A four-group classification (squamous, immunogenic, pancreatic progenitor, and aberrantly differentiated endocrine–exocrine) and a two-group classification (basal-like and classical) were described (Baileyvd. , 2016). Some of these subgroups were reported to overlap with histologically defined tumor types (for example, the squamous subtype with adenosquamous carcinoma), whereas others (such as the immunogenic and ADEX subtypes) were suggested to potentially represent artifacts related to stromal contamination in the original analyses (Hayashivd. , 2020).

## **6. CONCLUSION**

Pancreatic cancer remains a leading cause of cancer-related mortality, owing to its advanced stage at diagnosis, rapid progression, and poor response to existing treatment modalities. Accumulating evidence indicates that pancreatic carcinogenesis is driven by accumulation of genetic and epigenetic alterations, most prominently involving oncogenic KRAS activation and inactivation of key tumor suppressor genes. The integration of epidemiologic risk factors, hereditary susceptibility, precursor lesions, and molecular profiling has substantially improved our understanding of disease heterogeneity. Recent advances in gene expression–based subclassification have further highlighted biologically distinct tumor subtypes with potential prognostic and therapeutic implications. Moreover, insights into tumor microenvironmental dynamics and DNA repair deficiencies have begun to inform targeted and personalized treatment strategies. Despite these advances, early detection remains challenging, and survival outcomes have improved only modestly. Continued efforts integrating molecular biology, translational research, and

biomarker development are essential to advance early diagnosis, refine risk stratification, and expand effective therapeutic options in pancreatic cancer.

## REFERENCES

- Abraham, S. C., Wu, T. T., Klimstra, D. S., Finn, L. S., Lee, J. H., Yeo, C. J., . . . Hruban, R. H. (2001). Distinctive molecular genetic alterations in sporadic and familial adenomatous polyposis-associated pancreatoblastomas : frequent alterations in the APC/beta-catenin pathway and chromosome 11p. *Am J Pathol*, 159(5), 1619-1627. doi:10.1016/s0002-9440(10)63008-8
- Agaimy, A., Haller, F., Frohnauer, J., Schaefer, I. M., Strobel, P., Hartmann, A., . . . Kloppel, G. (2015). Pancreatic undifferentiated rhabdoid carcinoma: KRAS alterations and SMARCB1 expression status define two subtypes. *Mod Pathol*, 28(2), 248-260. doi:10.1038/modpathol.2014.100
- Aggarwal, G., Kamada, P., & Chari, S. T. (2013). Prevalence of diabetes mellitus in pancreatic cancer compared to common cancers. *Pancreas*, 42(2), 198-201. doi:10.1097/MPA.0b013e3182592c96
- Al-Sukhni, W., Borgida, A., Rothenmund, H., Holter, S., Semotiuk, K., Grant, R., . . . Gallinger, S. (2012). Screening for pancreatic cancer in a high-risk cohort: an eight-year experience. *J Gastrointest Surg*, 16(4), 771-783. doi:10.1007/s11605-011-1781-6
- Arem, H., Reedy, J., Sampson, J., Jiao, L., Hollenbeck, A. R., Risch, H., . . . Stolzenberg-Solomon, R. Z. (2013). The Healthy Eating Index 2005 and risk for pancreatic cancer in the NIH-AARP study. *J Natl Cancer Inst*, 105(17), 1298-1305. doi:10.1093/jnci/djt185
- Arslan, A. A., Helzlsouer, K. J., Kooperberg, C., Shu, X. O., Steplowski, E., Bueno-de-Mesquita, H. B., . . . Pancreatic Cancer Cohort, C. (2010). Anthropometric measures,

- body mass index, and pancreatic cancer: a pooled analysis from the Pancreatic Cancer Cohort Consortium (PanScan). *Arch Intern Med*, 170(9), 791-802. doi:10.1001/archinternmed.2010.63
- Aversa, J. G., De Abreu, F. B., Yano, S., Xi, L., Hadley, D. W., Manoli, I., . . . Nilubol, N. (2020). The first pancreatic neuroendocrine tumor in Li-Fraumeni syndrome: a case report. *BMC Cancer*, 20(1), 256. doi:10.1186/s12885-020-06723-6
- Bailey, P., Chang, D. K., Nones, K., Johns, A. L., Patch, A. M., Gingras, M. C., . . . Grimmond, S. M. (2016). Genomic analyses identify molecular subtypes of pancreatic cancer. *Nature*, 531(7592), 47-52. doi:10.1038/nature16965
- Bamford, S., Dawson, E., Forbes, S., Clements, J., Pettett, R., Dogan, A., . . . Wooster, R. (2004). The COSMIC (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer) database and website. *Br J Cancer*, 91(2), 355-358. doi:10.1038/sj.bjc.6601894
- Batabyal, P., Vander Hoorn, S., Christophi, C., & Nikfarjam, M. (2014). Association of diabetes mellitus and pancreatic adenocarcinoma: a meta-analysis of 88 studies. *Ann Surg Oncol*, 21(7), 2453-2462. doi:10.1245/s10434-014-3625-6
- Bosetti, C., Lucenteforte, E., Silverman, D. T., Petersen, G., Bracci, P. M., Ji, B. T., . . . La Vecchia, C. (2012). Cigarette smoking and pancreatic cancer: an analysis from the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (Panc4). *Ann Oncol*, 23(7), 1880-1888. doi:10.1093/annonc/mdr541
- Bosetti, C., Rosato, V., Li, D., Silverman, D., Petersen, G. M., Bracci, P. M., . . . Ghadirian, P. (2014). Diabetes,

antidiabetic medications, and pancreatic cancer risk: an analysis from the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium. *Ann Oncol*, 25(10), 2065-2072. doi:10.1093/annonc/mdu276

Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 74(3), 229-263. doi:10.3322/caac.21834

Cancer Genome Atlas Research Network. Electronic address, a. a. d. h. e., & Cancer Genome Atlas Research, N. (2017). Integrated Genomic Characterization of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cancer Cell*, 32(2), 185-203 e113. doi:10.1016/j.ccell.2017.07.007

Capasso, M., Franceschi, M., Rodriguez-Castro, K. I., Crafa, P., Cambie, G., Miraglia, C., . . . Di Mario, F. (2018). Epidemiology and risk factors of pancreatic cancer. *Acta Biomed*, 89(9-S), 141-146. doi:10.23750/abm.v89i9-S.7923

Carreras-Torres, R., Johansson, M., Gaborieau, V., Haycock, P. C., Wade, K. H., Relton, C. L., . . . Brennan, P. (2017). The Role of Obesity, Type 2 Diabetes, and Metabolic Factors in Pancreatic Cancer: A Mendelian Randomization Study. *J Natl Cancer Inst*, 109(9). doi:10.1093/jnci/djx012

Chari, S. T., Leibson, C. L., Rabe, K. G., Timmons, L. J., Ransom, J., de Andrade, M., & Petersen, G. M. (2008). Pancreatic cancer-associated diabetes mellitus: prevalence and temporal association with diagnosis of cancer. *Gastroenterology*, 134(1), 95-101. doi:10.1053/j.gastro.2007.10.040

- Dakal, T. C., Dhabhai, B., Pant, A., Moar, K., Chaudhary, K., Yadav, V., . . . Sharma, A. (2024). Oncogenes and tumor suppressor genes: functions and roles in cancers. *MedComm* (2020), 5(6), e582. doi:10.1002/mco2.582
- Duell, E. J., Holly, E. A., Bracci, P. M., Liu, M., Wiencke, J. K., & Kelsey, K. T. (2002). A population-based, case-control study of polymorphisms in carcinogen-metabolizing genes, smoking, and pancreatic adenocarcinoma risk. *J Natl Cancer Inst*, 94(4), 297-306. doi:10.1093/jnci/94.4.297
- Farrow, D. C., & Davis, S. (1990). Risk of pancreatic cancer in relation to medical history and the use of tobacco, alcohol and coffee. *Int J Cancer*, 45(5), 816-820. doi:10.1002/ijc.2910450504
- Fuchs, C. S., Colditz, G. A., Stampfer, M. J., Giovannucci, E. L., Hunter, D. J., Rimm, E. B., . . . Speizer, F. E. (1996). A prospective study of cigarette smoking and the risk of pancreatic cancer. *Arch Intern Med*, 156(19), 2255-2260. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8885826>
- Ghadirian, P., Simard, A., & Baillargeon, J. (1991). Tobacco, alcohol, and coffee and cancer of the pancreas. A population-based, case-control study in Quebec, Canada. *Cancer*, 67(10), 2664-2670. doi:10.1002/1097-0142(19910515)67:10<2664::aid-cncr2820671043>3.0.co;2-k
- Giardiello, F. M., Brensinger, J. D., Tersmette, A. C., Goodman, S. N., Petersen, G. M., Booker, S. V., . . . Offerhaus, J. A. (2000). Very high risk of cancer in familial Peutz-Jeghers syndrome. *Gastroenterology*, 119(6), 1447-1453. doi:10.1053/gast.2000.20228

- Grant, R. C., Selander, I., Connor, A. A., Selvarajah, S., Borgida, A., Briollais, L., . . . Gallinger, S. (2015). Prevalence of germline mutations in cancer predisposition genes in patients with pancreatic cancer. *Gastroenterology*, *148*(3), 556-564. doi:10.1053/j.gastro.2014.11.042
- Greenhalf, W., Levy, P., Gress, T., Rebours, V., Brand, R. E., Pandol, S., . . . Working group for the International Consensus Guidelines for Chronic, P. (2020). International consensus guidelines on surveillance for pancreatic cancer in chronic pancreatitis. Recommendations from the working group for the international consensus guidelines for chronic pancreatitis in collaboration with the International Association of Pancreatology, the American Pancreatic Association, the Japan Pancreas Society, and European Pancreatic Club. *Pancreatology*, *20*(5), 910-918. doi:10.1016/j.pan.2020.05.011
- Grover, S., & Syngal, S. (2010). Hereditary pancreatic cancer. *Gastroenterology*, *139*(4), 1076-1080, 1080 e1071-1072. doi:10.1053/j.gastro.2010.08.012
- Hassan, M. M., Li, D., El-Deeb, A. S., Wolff, R. A., Bondy, M. L., Davila, M., & Abbruzzese, J. L. (2008). Association between hepatitis B virus and pancreatic cancer. *J Clin Oncol*, *26*(28), 4557-4562. doi:10.1200/JCO.2008.17.3526
- Hayashi, A., Fan, J., Chen, R., Ho, Y. J., Makohon-Moore, A. P., Lecomte, N., . . . Iacobuzio-Donahue, C. A. (2020). A unifying paradigm for transcriptional heterogeneity and squamous features in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Nat Cancer*, *1*(1), 59-74. doi:10.1038/s43018-019-0010-1
- Herman, J. G., Jen, J., Merlo, A., & Baylin, S. B. (1996). Hypermethylation-associated inactivation indicates a

tumor suppressor role for p15INK4B. *Cancer Res*, 56(4), 722-727. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8631003>

Hingorani, S. R., Wang, L., Multani, A. S., Combs, C., Deramaudt, T. B., Hruban, R. H., . . . Tuveson, D. A. (2005). Trp53R172H and KrasG12D cooperate to promote chromosomal instability and widely metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma in mice. *Cancer Cell*, 7(5), 469-483. doi:10.1016/j.ccr.2005.04.023

Hosoda, W., Chianchiano, P., Griffin, J. F., Pittman, M. E., Brosens, L. A., Noe, M., . . . Wood, L. D. (2017). Genetic analyses of isolated high-grade pancreatic intraepithelial neoplasia (HG-PanIN) reveal paucity of alterations in TP53 and SMAD4. *J Pathol*, 242(1), 16-23. doi:10.1002/path.4884

Hruban, R. H., Goggins, M., Parsons, J., & Kern, S. E. (2000). Progression model for pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*, 6(8), 2969-2972. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10955772>

Hu, C., Hart, S. N., Polley, E. C., Gnanaolivu, R., Shimelis, H., Lee, K. Y., . . . Couch, F. J. (2018). Association Between Inherited Germline Mutations in Cancer Predisposition Genes and Risk of Pancreatic Cancer. *JAMA*, 319(23), 2401-2409. doi:10.1001/jama.2018.6228

Hu, C., LaDuca, H., Shimelis, H., Polley, E. C., Lilyquist, J., Hart, S. N., . . . Couch, F. J. (2018). Multigene Hereditary Cancer Panels Reveal High-Risk Pancreatic Cancer Susceptibility Genes. *JCO Precis Oncol*, 2. doi:10.1200/PO.17.00291

Huang, J., Magnusson, M., Torner, A., Ye, W., & Duberg, A. S. (2013). Risk of pancreatic cancer among individuals with

hepatitis C or hepatitis B virus infection: a nationwide study in Sweden. *Br J Cancer*, 109(11), 2917-2923. doi:10.1038/bjc.2013.689

Huxley, R., Ansary-Moghaddam, A., Berrington de Gonzalez, A., Barzi, F., & Woodward, M. (2005). Type-II diabetes and pancreatic cancer: a meta-analysis of 36 studies. *Br J Cancer*, 92(11), 2076-2083. doi:10.1038/sj.bjc.6602619

Jackson, M. A., Lea, I., Rashid, A., Peddada, S. D., & Dunnick, J. K. (2006). Genetic alterations in cancer knowledge system: analysis of gene mutations in mouse and human liver and lung tumors. *Toxicol Sci*, 90(2), 400-418. doi:10.1093/toxsci/kfj101

Jones, S., Zhang, X., Parsons, D. W., Lin, J. C., Leary, R. J., Angenendt, P., . . . Kinzler, K. W. (2008). Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses. *Science*, 321(5897), 1801-1806. doi:10.1126/science.1164368

Kastrinos, F., Mukherjee, B., Tayob, N., Wang, F., Sparr, J., Raymond, V. M., . . . Syngal, S. (2009). Risk of pancreatic cancer in families with Lynch syndrome. *JAMA*, 302(16), 1790-1795. doi:10.1001/jama.2009.1529

Kimura, H., Klein, A. P., Hruban, R. H., & Roberts, N. J. (2021). The Role of Inherited Pathogenic CDKN2A Variants in Susceptibility to Pancreatic Cancer. *Pancreas*, 50(8), 1123-1130. doi:10.1097/MPA.0000000000001888

Klein, A. P., Hruban, R. H., Brune, K. A., Petersen, G. M., & Goggins, M. (2001). Familial pancreatic cancer. *Cancer J*, 7(4), 266-273. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11561603>

Larsson, S. C., & Wolk, A. (2012). Red and processed meat consumption and risk of pancreatic cancer: meta-analysis

- of prospective studies. *Br J Cancer*, 106(3), 603-607. doi:10.1038/bjc.2011.585
- Lesueur, F., Easton, D. F., Renault, A. L., Tavtigian, S. V., Bernstein, J. L., Kote-Jarai, Z., . . . Andrieu, N. (2022). First international workshop of the ATM and cancer risk group (4-5 December 2019). *Fam Cancer*, 21(2), 211-227. doi:10.1007/s10689-021-00248-y
- Li, D., Morris, J. S., Liu, J., Hassan, M. M., Day, R. S., Bondy, M. L., & Abbruzzese, J. L. (2009). Body mass index and risk, age of onset, and survival in patients with pancreatic cancer. *JAMA*, 301(24), 2553-2562. doi:10.1001/jama.2009.886
- Li, S., Silvestri, V., Leslie, G., Rebbeck, T. R., Neuhausen, S. L., Hopper, J. L., . . . Antoniou, A. C. (2022). Cancer Risks Associated With BRCA1 and BRCA2 Pathogenic Variants. *J Clin Oncol*, 40(14), 1529-1541. doi:10.1200/JCO.21.02112
- Lowenfels, A. B., Maisonneuve, P., & Whitcomb, D. C. (2000). Risk factors for cancer in hereditary pancreatitis. International Hereditary Pancreatitis Study Group. *Med Clin North Am*, 84(3), 565-573. doi:10.1016/s0025-7125(05)70240-6
- Lucenteforte, E., La Vecchia, C., Silverman, D., Petersen, G. M., Bracci, P. M., Ji, B. T., . . . Duell, E. J. (2012). Alcohol consumption and pancreatic cancer: a pooled analysis in the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (PanC4). *Ann Oncol*, 23(2), 374-382. doi:10.1093/annonc/mdr120
- Lynch, H. T., Lanspa, S. J., Fitzgibbons, R. J., Jr., Smyrk, T., Fitzsimmons, M. L., & McClellan, J. (1989). Familial pancreatic cancer (Part 1): Genetic pathology review.

- Nebr Med J*, 74(5), 109-112. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2542813>
- Lynch, S. M., Vrieling, A., Lubin, J. H., Kraft, P., Mendelsohn, J. B., Hartge, P., . . . Stolzenberg-Solomon, R. Z. (2009). Cigarette smoking and pancreatic cancer: a pooled analysis from the pancreatic cancer cohort consortium. *Am J Epidemiol*, 170(4), 403-413. doi:10.1093/aje/kwp134
- Mack, T. M., Yu, M. C., Hanisch, R., & Henderson, B. E. (1986). Pancreas cancer and smoking, beverage consumption, and past medical history. *J Natl Cancer Inst*, 76(1), 49-60. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3455742>
- Mahale, P., Torres, H. A., Kramer, J. R., Hwang, L. Y., Li, R., Brown, E. L., & Engels, E. A. (2017). Hepatitis C virus infection and the risk of cancer among elderly US adults: A registry-based case-control study. *Cancer*, 123(7), 1202-1211. doi:10.1002/cncr.30559
- Maisonneuve, P., & Lowenfels, A. B. (2015). Risk factors for pancreatic cancer: a summary review of meta-analytical studies. *Int J Epidemiol*, 44(1), 186-198. doi:10.1093/ije/dyu240
- Michaud, D. S., Giovannucci, E., Willett, W. C., Colditz, G. A., Stampfer, M. J., & Fuchs, C. S. (2001). Physical activity, obesity, height, and the risk of pancreatic cancer. *JAMA*, 286(8), 921-929. doi:10.1001/jama.286.8.921
- Michaud, D. S., Vrieling, A., Jiao, L., Mendelsohn, J. B., Steplowski, E., Lynch, S. M., . . . Stolzenberg-Solomon, R. Z. (2010). Alcohol intake and pancreatic cancer: a pooled analysis from the pancreatic cancer cohort

- consortium (PanScan). *Cancer Causes Control*, 21(8), 1213-1225. doi:10.1007/s10552-010-9548-z
- Murphy, S. J., Hart, S. N., Lima, J. F., Kipp, B. R., Klebig, M., Winters, J. L., . . . Couch, F. J. (2013). Genetic alterations associated with progression from pancreatic intraepithelial neoplasia to invasive pancreatic tumor. *Gastroenterology*, 145(5), 1098-1109 e1091. doi:10.1053/j.gastro.2013.07.049
- Neureiter, D., Jager, T., Ocker, M., & Kiesslich, T. (2014). Epigenetics and pancreatic cancer: pathophysiology and novel treatment aspects. *World J Gastroenterol*, 20(24), 7830-7848. doi:10.3748/wjg.v20.i24.7830
- Nothlings, U., Wilkens, L. R., Murphy, S. P., Hankin, J. H., Henderson, B. E., & Kolonel, L. N. (2005). Meat and fat intake as risk factors for pancreatic cancer: the multiethnic cohort study. *J Natl Cancer Inst*, 97(19), 1458-1465. doi:10.1093/jnci/dji292
- Olson, S. H., & Kurtz, R. C. (2013). Epidemiology of pancreatic cancer and the role of family history. *J Surg Oncol*, 107(1), 1-7. doi:10.1002/jso.23149
- Paniccia, A., Polanco, P. M., Boone, B. A., Wald, A. I., McGrath, K., Brand, R. E., . . . Singhi, A. D. (2023). Prospective, Multi-Institutional, Real-Time Next-Generation Sequencing of Pancreatic Cyst Fluid Reveals Diverse Genomic Alterations That Improve the Clinical Management of Pancreatic Cysts. *Gastroenterology*, 164(1), 117-133 e117. doi:10.1053/j.gastro.2022.09.028
- Pannala, R., Leirness, J. B., Bamlet, W. R., Basu, A., Petersen, G. M., & Chari, S. T. (2008). Prevalence and clinical profile of pancreatic cancer-associated diabetes mellitus.

- Gastroenterology*, 134(4), 981-987.  
doi:10.1053/j.gastro.2008.01.039
- Pelosi, E., Castelli, G., & Testa, U. (2017). Pancreatic Cancer: Molecular Characterization, Clonal Evolution and Cancer Stem Cells. *Biomedicines*, 5(4).  
doi:10.3390/biomedicines5040065
- Pfluger, M. J., Brosens, L. A. A., & Hruban, R. H. (2024). Precursor lesions in familial and hereditary pancreatic cancer. *Fam Cancer*, 23(3), 267-278.  
doi:10.1007/s10689-024-00359-2
- Rebours, V., Levy, P., & Ruzsniwski, P. (2012). An overview of hereditary pancreatitis. *Dig Liver Dis*, 44(1), 8-15.  
doi:10.1016/j.dld.2011.08.003
- Redston, M. S., Caldas, C., Seymour, A. B., Hruban, R. H., da Costa, L., Yeo, C. J., & Kern, S. E. (1994). p53 mutations in pancreatic carcinoma and evidence of common involvement of homocopolymer tracts in DNA microdeletions. *Cancer Res*, 54(11), 3025-3033.  
Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8187092>
- Sato, N., Rosty, C., Jansen, M., Fukushima, N., Ueki, T., Yeo, C. J., . . . Goggins, M. (2001). STK11/LKB1 Peutz-Jeghers gene inactivation in intraductal papillary-mucinous neoplasms of the pancreas. *Am J Pathol*, 159(6), 2017-2022. doi:10.1016/S0002-9440(10)63053-2
- Serra, E., Puig, S., Otero, D., Gaona, A., Kruyer, H., Ars, E., . . . Lazaro, C. (1997). Confirmation of a double-hit model for the NF1 gene in benign neurofibromas. *Am J Hum Genet*, 61(3), 512-519. doi:10.1086/515504
- Shi, C., Daniels, J. A., & Hruban, R. H. (2008). Molecular characterization of pancreatic neoplasms. *Adv Anat*

*Pathol*, 15(4), 185-195.  
doi:10.1097/PAP.0b013e31817bf57d

- Shindo, K., Yu, J., Suenaga, M., Fesharakizadeh, S., Cho, C., Macgregor-Das, A., . . . Goggins, M. (2017). Deleterious Germline Mutations in Patients With Apparently Sporadic Pancreatic Adenocarcinoma. *J Clin Oncol*, 35(30), 3382-3390. doi:10.1200/JCO.2017.72.3502
- Silverman, D. T., Dunn, J. A., Hoover, R. N., Schiffman, M., Lillemoe, K. D., Schoenberg, J. B., . . . et al. (1994). Cigarette smoking and pancreas cancer: a case-control study based on direct interviews. *J Natl Cancer Inst*, 86(20), 1510-1516. doi:10.1093/jnci/86.20.1510
- Singhi, A. D., Wood, L. D., Parks, E., Torbenson, M. S., Felsenstein, M., Hruban, R. H., . . . Slivka, A. (2020). Recurrent Rearrangements in PRKACA and PRKACB in Intraductal Oncocytic Papillary Neoplasms of the Pancreas and Bile Duct. *Gastroenterology*, 158(3), 573-582 e572. doi:10.1053/j.gastro.2019.10.028
- Stolzenberg-Solomon, R. Z., Adams, K., Leitzmann, M., Schairer, C., Michaud, D. S., Hollenbeck, A., . . . Silverman, D. T. (2008). Adiposity, physical activity, and pancreatic cancer in the National Institutes of Health-AARP Diet and Health Cohort. *Am J Epidemiol*, 167(5), 586-597. doi:10.1093/aje/kwm361
- Trikudanathan, G., Philip, A., Dasanu, C. A., & Baker, W. L. (2011). Association between Helicobacter pylori infection and pancreatic cancer. A cumulative meta-analysis. *JOP*, 12(1), 26-31. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21206097>
- Waddell, N., Pajic, M., Patch, A. M., Chang, D. K., Kassahn, K. S., Bailey, P., . . . Grimmond, S. M. (2015). Whole

genomes redefine the mutational landscape of pancreatic cancer. *Nature*, 518(7540), 495-501. doi:10.1038/nature14169

Wagner, A., Aretz, S., Auranen, A., Bruno, M. J., Cavestro, G. M., Crosbie, E. J., . . . Moslein, G. (2021). The Management of Peutz-Jeghers Syndrome: European Hereditary Tumour Group (EHTG) Guideline. *J Clin Med*, 10(3). doi:10.3390/jcm10030473

Winter, J. M., Ting, A. H., Vilardell, F., Gallmeier, E., Baylin, S. B., Hruban, R. H., . . . Iacobuzio-Donahue, C. A. (2008). Absence of E-cadherin expression distinguishes noncohesive from cohesive pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*, 14(2), 412-418. doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-0487

Wu, J., Jiao, Y., Dal Molin, M., Maitra, A., de Wilde, R. F., Wood, L. D., . . . Vogelstein, B. (2011). Whole-exome sequencing of neoplastic cysts of the pancreas reveals recurrent mutations in components of ubiquitin-dependent pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108(52), 21188-21193. doi:10.1073/pnas.1118046108

Xiao, M., Wang, Y., & Gao, Y. (2013). Association between *Helicobacter pylori* infection and pancreatic cancer development: a meta-analysis. *PLoS One*, 8(9), e75559. doi:10.1371/journal.pone.0075559

Yu, G., Murphy, G., Michel, A., Weinstein, S. J., Mannisto, S., Albanes, D., . . . Stolzenberg-Solomon, R. Z. (2013). Seropositivity to *Helicobacter pylori* and risk of pancreatic cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 22(12), 2416-2419. doi:10.1158/1055-9965.EPI-13-0680

Yuan, C., Bao, Y., Wu, C., Kraft, P., Ogino, S., Ng, K., . . . Wolpin, B. M. (2013). Prediagnostic body mass index and

pancreatic cancer survival. *J Clin Oncol*, 31(33), 4229-4234. doi:10.1200/JCO.2013.51.7532

Zavoral, M., Minarikova, P., Zavada, F., Salek, C., & Minarik, M. (2011). Molecular biology of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol*, 17(24), 2897-2908. doi:10.3748/wjg.v17.i24.2897

Zhan, W., Shelton, C. A., Greer, P. J., Brand, R. E., & Whitcomb, D. C. (2018). Germline Variants and Risk for Pancreatic Cancer: A Systematic Review and Emerging Concepts. *Pancreas*, 47(8), 924-936. doi:10.1097/MPA.0000000000001136

# **GENOMIC ALTERATIONS AND GENETIC BIOMARKERS IN COLORECTAL CARCINOGENESIS**

**Sena ŞEN<sup>1</sup>**

## **1. INTRODUCTION**

Colorectal cancer (CRC) remains one of the most commonly diagnosed malignancies across the globe. Based on the 2022 estimates reported by GLOBOCAN, it ranks as the third most prevalent cancer among men (11.6%) and the second among women (10%) worldwide. Regarding cancer-related mortality, CRC is the fourth leading cause of death in men (9.1%) and the third in women (9.3%) (Siegel, Miller, Fuchs, & Jemal, 2022). Recent advances in the diagnosis, treatment, and follow-up of CRC have led to improved survival outcomes. Five-year survival rates show that CRC ranks second among men (14.5%) and third among women (10.6%) in terms of survivorship. The etiology of CRC involves a complex interplay between genetic predispositions and environmental exposures (Siegel, Miller, & Jemal, 2018). Approximately 70–80% of CRC cases are sporadic, while 20–30% are associated with hereditary factors. Thus, CRC represents a highly heterogeneous group of malignancies with multifactorial pathogenesis. Established etiological risk factors include advanced age, tobacco and alcohol use, dietary patterns, chronic intestinal inflammation, colorectal polyps, and inherited cancer syndromes.

---

<sup>1</sup> Dr. Istanbul University, Oncology Institute, Department of Basic Oncology, ORCID: 0000-0003-3967-8903.

The diagnosis of colorectal cancer is typically established when clinical manifestations such as abdominal pain, rectal bleeding, anemia, and changes in bowel habits are present, or through screening procedures for example, fecal occult blood testing and colonoscopic evaluation in individuals identified as having an intermediate to elevated risk profile (Amri, Bordeianou, Sylla, & Berger, 2013). Colonoscopy is recommended for both diagnostic confirmation and precise determination of the tumor's anatomical location. During the last twenty years, substantial scientific efforts have been directed toward identifying prognostic and predictive biomarkers, and several screening biomarkers have been proposed for CRC. However, despite these efforts, only a limited number of these biomarkers have been approved for routine clinical use (Knoblauch, Kuhn, von Ehrlich-Treuenstatt, Werner, & Renz, 2023).

According to the 2011 National Cancer Incidence Statistics from the United Kingdom, nearly 31% of colorectal cancer cases arise in the proximal colon, whereas about 25% are found in the distal colon including the splenic flexure, and about 34% arise in the rectum and rectosigmoid junction. In recent years, however, divergent incidence trends have been observed between tumors of the proximal colon and those of the rectum. In several Western countries the incidence of proximal colon has increased over the past 5-years, while rectal cancer incidence has followed a different long-term pattern over the past three decades. Proximal colon cancer is more common in women, while rectal cancer is more frequently diagnosed in men. Studies investigating environmental and lifestyle-related factors suggest that these exposures may have different effects on colon and rectal cancers. Comprehensive systematic and meta-analyses of studies have shown that, physical activity is associated with a reduced risk of colon cancer, while its protective effect on

rectal cancer is less consistent. These findings are consistent with data from large prospective cohort analysis, which followed 506,488 participants from 1995 to 2006. In that study, behavioral factors – including physical activity, dietary habits, and smoking – as well as body mass index were identified as stronger risk determinants for colon cancer than for rectal cancer. Overall, adherence to a healthy lifestyle appears to provide a greater protective effect against colon cancer than against rectal cancer.

## **2. GENETIC MECHANISMS OF CRC**

CRCs develop through a biologically diverse tumorigenic process that is primarily governed by three major molecular pathways: microsatellite instability (MSI), chromosomal instability (CIN), and the CpG island methylator phenotype (CIMP). These pathways may act independently or in combination during tumor development (Gala et al., 2014). Each of these distinct molecular mechanisms is associated with specific pathological features, underlying mechanisms of carcinogenesis, and patterns of tumor progression. Importantly, the identification of these pathways has significant clinical implications, and they are currently utilized in the diagnosis, screening, and management of patients CRC (Nazemalhosseini Mojarad, Kuppen, Aghdaei, & Zali, 2013).

### **2.1. Chromosomal Instability**

Chromosomal instability (CIN) is observed in approximately 75% of sporadic colorectal cancers. Defects in chromosomal segregation, DNA damage repair mechanisms, and telomere maintenance—manifesting as aneuploidy and loss of heterozygosity (LOH)—contribute to genomic imbalance. These alterations promote carcinogenesis through the accumulation of mutations in oncogenes and tumor suppressor genes (Pino &

Chung, 2010). Mutations in genes regulating the mitotic checkpoint and ensuring accurate chromosomal segregation, including Centromere-Associated Protein E (CENP-E), Mitotic Arrest Deficient 1 (MAD1), hRod, hZwilch, hZw10, and Budding Uninhibited by Benzimidazoles (BubR1), have been implicated in genomic instability. In addition, abnormal activity of centrosome-associated kinases such as Aurora kinase A (AURKA), Aurora kinase B (AURKB), Aurora kinase C (AURKC), and Polo-like kinases (Plk) further contributes to chromosomal mis-segregation and CIN (Ryan et al., 2012; Shin et al., 2003; Zhao et al., 2014). Moreover, mutations and polymorphisms in genes involved in DNA repair pathways—including base excision repair (XRCC1, OGG1, and MUTYH), mismatch repair (MMR), and nucleotide excision repair—have been associated with chromosomal abnormalities and telomere shortening, thereby facilitating colorectal tumorigenesis (Przybyłowska et al., 2013; Wang et al., 2004).

## **2.2. CpG Island Methylator Phenotype**

The CpG Island Methylator Phenotype (CIMP) is characterized by widespread promoter hypermethylation of multiple tumor suppressor genes. Driver mutations in the BRAF gene are considered pivotal events in the initiation of CIMP and are strongly associated with MLH1 promoter hypermethylation (Poynter et al., 2008). In the literature, CIMP classification is based on the methylation status of a defined gene panel that includes genes involved in DNA repair (MGMT), tumor suppression (CDKN2A, HLTF, GATA5, ID4, and TSLC1), metastasis suppression (CDH4, CDH13, and TIMP3), apoptosis regulation (CACNA1G, HRK, and RASSF1A), and angiogenesis inhibition (TSP1). Tumors exhibiting promoter methylation in more than six of these genes are categorized as CIMP-high (CIMP-H), those with methylation in fewer than six genes as CIMP-low (CIMP-L), and those without detectable methylation as CIMP-

negative (CIMP-N) (Hokazono et al., 2014). Furthermore, BRAF mutations have been linked to aberrant methylation patterns mediated through alterations in TET enzyme activity. Epigenetic dysregulation of genes involved in chromatin remodeling, such as CHD7 and CHD8, has also been associated with CIMP and contributes to colorectal carcinogenesis (Ichimura et al., 2015; Tahara et al., 2014).

### **2.3. Microsatellite Instability**

Most studies investigating the molecular biology of colon cancer have primarily focused on the analysis of MSI (Salovaara et al., 2000). MSI arises as a consequence of defects in the DNA mismatch repair (MMR) system—responsible for correcting errors that occur during DNA replication—due to mutations in key MMR genes (hMSH2, hMSH6, hMSH3, hMLH1, hPMS2, hPMS1, and hMLH) or through hypermethylation of the MLH1 gene promoter. MSI is detected in approximately 15% of colorectal cancers (Kunkel & Erie, 2005). Mutations in MMR genes are identified in nearly 3% of CRC cases associated with Lynch syndrome, whereas MLH1 promoter hypermethylation is more commonly observed in sporadic CRCs (de la Chapelle & Hampel, 2010). Based on the analysis of mononucleotide markers (BAT25 and BAT26) and dinucleotide markers (D5S346, D2S123, and D17S250), tumors exhibiting instability in more than 30% of markers are classified as MSI-high (MSI-H), those with instability in less than 30% as MSI-low (MSI-L), and tumors without detectable instability as microsatellite stable (MSS) (Tariq & Ghias, 2016). In addition to classical MMR genes, somatic mutations in EPCAM, POLE, and POLD have also been implicated in CRC pathogenesis (Haraldsdottir et al., 2014). MLH1 promoter hypermethylation has been reported in the majority of sporadic MSI-H CRCs and in approximately 15% of Lynch syndrome-associated cases (Moreira et al., 2015). Clinically, MSI tumors are more fre-

quently localized in the proximal colon and are commonly associated with poor differentiation but, paradoxically, more good prognosis.

### **3. BIOMARKERS**

Despite substantial advances in chemotherapy and radiotherapy for colorectal cancer, significant improvements in early detection and reductions in mortality rates remain limited. Currently, there is no routinely used laboratory test with sufficient sensitivity and specificity for the early diagnosis of colorectal cancer. Serum carcinoembryonic antigen (CEA) levels are commonly evaluated in the preoperative and postoperative setting to guide surgical management and to provide prognostic information (Konishi et al., 2018; K. J. Liu et al., 2004). However, CEA lacks adequate performance as a standalone diagnostic marker for early-stage disease. Therefore, the identification and validation of novel candidate biomarkers for early detection are of critical importance. In clinical practice, several genetic biomarkers are currently utilized in the diagnosis, treatment selection, disease monitoring, and therapeutic response in CRC.

#### **3.1. KRAS**

The *Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog* (*KRAS*) is a proto-oncogene that encodes a 21-kDa GTP/GDP-binding protein functioning downstream of the epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling pathway (Beganovic, 2009). Activating mutations in *KRAS* most frequently occur in codons 12 and 13 of exon 2. *KRAS* mutations are commonly detected in colorectal adenomas; however, only a small proportion of adenomas progress to carcinoma. Therefore, the presence of a *KRAS* mutation alone does not reliably predict malignant transformation. Instead, *KRAS* mutational status serves primarily as a predictive biomarker for response to anti-EGFR-targeted

therapies (Amado et al., 2008). In metastatic colorectal cancer, KRAS mutations are recognized as markers of resistance to monoclonal antibody therapies targeting EGFR. It has been reported that approximately 30–50% of colorectal tumors harbor mutant KRAS (De Roock, De Vriendt, Normanno, Ciardiello, & Tejpar, 2011), suggesting that nearly half of patients may potentially benefit from anti-EGFR antibody therapy (Allegra et al., 2011; Amado et al., 2008; Van Cutsem et al., 2011). Nevertheless, 40–60% of patients with wild-type KRAS tumors fail to respond to such treatments, indicating that additional molecular determinants influence therapeutic efficacy (Amado et al., 2008).

### **3.2. BRAF**

BRAF, a member of the RAF gene family, encodes a serine/threonine protein kinase involved in the RAS–RAF–MEK–ERK signaling cascade. BRAF mutations are detected in approximately 8–12% of CRCs and provide important prognostic information. The BRAFV600E mutation, in particular, has been shown to correlate with MSI-H status, occurring in about 7% of MSS CRCs and nearly 40% of MSI-associated CRCs (Rajagopalan et al., 2002). Clinically, BRAF mutations are more frequently observed in tumors of the ascending colon and are associated with poorer overall survival. Moreover, CRC patients harboring BRAF mutations generally do not benefit from anti-EGFR monoclonal antibody therapies such as cetuximab or panitumumab in the context of chemotherapy (Andreyev et al., 2001). Therefore, the identification of BRAF mutations in colorectal carcinoma has both prognostic and predictive value, particularly in guiding anti-EGFR-targeted treatment strategies. BRAF mutations are strongly associated with sporadic CRC and are rarely detected (approximately 1.4%) in Lynch syndrome-associated cases. Consequently, BRAF mutation analysis may also serve as a useful diagnostic tool in distinguishing sporadic

colorectal cancers from those related to Lynch syndrome (O'Brien, 2007).

### **3.3. APC**

*Adenomatous polyposis coli (APC)* gene is a tumor suppressor gene located on chromosome 5q21 that plays a critical role in the Wnt signaling pathway (Grodin et al., 1991). Multiple studies have reported that APC mutations are present in at least 70% of CRCs. These mutations are also observed in hereditary CRC syndromes, including familial adenomatous polyposis and Lynch syndrome. Furthermore, when specific germline APC mutations are identified within a family, they can serve as prognostic biomarkers for assessing predisposition to colorectal cancer (Markowitz & Bertagnolli, 2009).

### **3.4. PIK3CA**

*Phosphatidylinositol 3-kinase catalytic subunit alpha (PIK3CA)* is a proto-oncogene that plays a central role in regulating cell proliferation and survival, including the control of apoptosis in damaged cells. Somatic mutations in PIK3CA are most frequently detected in exon 9 (notably E542K and E545K) and exon 20 (commonly H1047R), and are reported in approximately 15–30% of CRCs. Mutations affecting exon 20, in particular, have been suggested to serve as predictive biomarkers of resistance to anti-EGFR-targeted therapies (Gonzalez-Pons & Cruz-Correa, 2015). The PI3K signaling cascade, including downstream effectors such as Akt and mTOR, can be modulated directly or indirectly by aspirin. By inhibiting this pathway, aspirin exerts anti-proliferative effects, promotes apoptosis, and suppresses tumor cell growth. In addition, in colorectal cancer patients with wild-type KRAS, the presence of a PIK3CA mutation has been associated with increased mortality, whereas no significant difference in mortality has been observed in cases with concurrent mutations (De Roock et al., 2010).

### **3.5. TP53**

Mutations in *TP53* are highly prevalent across many cancer types and are also frequently detected in CRC (Li, Zhou, Chen, & Chng, 2015). The *TP53* gene encodes p53 protein, a tumor suppressor protein that functions as a transcription factor regulating hundreds of target genes involved in critical cellular processes, including metabolism, autophagy, apoptosis, cell cycle control, angiogenesis, senescence, immune response, cellular motility, differentiation, and migration (J. Liu, Zhang, Hu, & Feng, 2015). Alterations affecting exons 5, 6, 7, and 8 of *TP53*, as well as loss of heterozygosity leading to functional inactivation, play a pivotal role in the adenoma-to-carcinoma transition and are observed in approximately 50–75% of CRC cases (Li et al., 2015). In a study conducted in an Austrian cohort, tumor samples from 572 colon cancer patients were analyzed using *TP53* gene-specific Sanger sequencing, revealing a mutation frequency of 33%, although *TP53* alterations were identified in 70% of the examined specimens (Kandioler et al., 2015). Similarly, in a Tunisian population study including 35 colorectal cancer patients, mutational analysis of exons 5–9 demonstrated *TP53* mutations in 43% of cases (Abdelmaksoud-Dammak et al., 2016). From a therapeutic perspective, preclinical findings suggest that CRC cell lines harboring wild-type *TP53* and mutant *KRAS* exhibit increased sensitivity to oxaliplatin. Moreover, clinical data indicate that patients treated with irinotecan and cetuximab show improved outcomes in the context of mutant *TP53* combined with wild-type *KRAS* genotypes (De Bruijn et al., 2011). Another study reported that *TP53* mutations were associated with prolonged progression-free survival in CRC patients with wild-type *KRAS* and *BRAF* who received cetuximab-based regimens (Hsu et al., 2016).

### **3.6. 18q LOH**

LOH at chromosome 18q21 is a common molecular event in CRC. The *Deleted in Colorectal Carcinoma (DCC)* gene, which encodes a netrin-1 receptor, acts as a tumor suppressor. In the absence of its ligand netrin-1, DCC promotes growth inhibition and apoptosis, helping to control cellular proliferation. Approximately 70% of CRC cases show LOH at the DCC locus (Popat & Houlston, 2005). For clinical outcomes, five-year overall survival has been reported as 70% in CRC patients with 18q LOH, compared to 68% in those without 18q LOH (Jen et al., 1994). These findings indicate that although 18q LOH is a frequent genetic alteration in CRC, its prognostic impact on long-term survival may be limited.

### **3.7. Microsatellite Instability**

MSI-H tumors are generally associated with a more favorable prognosis compared to MSS tumors. MSI-H CRCs tend to exhibit a lower propensity for lymph node involvement and distant metastasis than MSS counterparts. In addition, patients with MSI-H tumors demonstrate longer overall survival compared to those with MSI-L or MSS-CRC. For this reason, determination of MSI status serves as an important prognostic biomarker in stage II CRC. Beyond its prognostic value, MSI status also has predictive significance in the context of chemotherapy response. Specifically, MSI-H CRC patients have been reported to derive limited benefit from 5-fluorouracil –based adjuvant chemotherapy and may exhibit relative resistance compared to MSS patients (de la Chapelle & Hampel, 2010).

### **3.8. POLE/D1 Mutasyonu**

Mutations in the *POLE* gene, which encodes the catalytic subunit of DNA polymerase epsilon involved in DNA repair and chromosomal DNA replication, have been identified in sporadic CRC. These alterations may disrupt proofreading activity, lead-

ing to an increased mutational burden and genomic instability. It has been reported that mutations in *POLE* are associated with altered expression of DNA repair enzymes, including ERCC1, ERCC2, and XRCC1. Increased expression of these repair proteins has been linked to cellular responses to platinum-based chemotherapeutic agents, suggesting a potential interaction between *POLE* mutational status, DNA repair capacity, and sensitivity to platinum compounds (Palles et al., 2013).

#### **4. CONCLUSION**

CRC is a molecularly heterogeneous malignancy driven by diverse genetic alterations that shape tumor progression, prognosis, and treatment response. Among these, 18q LOH, MSI, and *POLE* mutations represent key genomic events. 18q LOH, frequently involving the DCC tumor suppressor gene, reflects chromosomal instability and contributes to tumor progression, although its prognostic value remains debated. In contrast, MSI defines a distinct subgroup associated with better prognosis, lower metastatic potential, and reduced benefit from 5-fluorouracil-based adjuvant therapy. *POLE* mutations impair DNA proofreading, leading to mutated tumor phenotypes and altered DNA repair activity, which may influence sensitivity to platinum-based treatments. Overall, integrating these molecular biomarkers into clinical practice enhances risk stratification and supports personalized therapeutic strategies in CRC.

## REFERENCES

- Abdelmaksoud-Dammak, R., Saadallah-Kallel, A., Miladi-Abdennadher, I., Ayedi, L., Khabir, A., Sallemi-Boudawara, T., . . . Mokdad-Gargouri, R. (2016). CpG methylation of ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 1 (UCHL1) and P53 mutation pattern in sporadic colorectal cancer. *Tumour Biol*, 37(2), 1707-1714. doi:10.1007/s13277-015-3902-4
- Allegra, C. J., Yothers, G., O'Connell, M. J., Sharif, S., Petrelli, N. J., Colangelo, L. H., . . . Wolmark, N. (2011). Phase III trial assessing bevacizumab in stages II and III carcinoma of the colon: results of NSABP protocol C-08. *J Clin Oncol*, 29(1), 11-16. doi:10.1200/JCO.2010.30.0855
- Amado, R. G., Wolf, M., Peeters, M., Van Cutsem, E., Siena, S., Freeman, D. J., . . . Chang, D. D. (2008). Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*, 26(10), 1626-1634. doi:10.1200/JCO.2007.14.7116
- Amri, R., Bordeianou, L. G., Sylla, P., & Berger, D. L. (2013). Impact of screening colonoscopy on outcomes in colon cancer surgery. *JAMA Surg*, 148(8), 747-754. doi:10.1001/jamasurg.2013.8
- Andreyev, H. J., Norman, A. R., Cunningham, D., Oates, J., Dix, B. R., Iacopetta, B. J., . . . Urosevic, N. (2001). Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the 'RASCAL II' study. *Br J Cancer*, 85(5), 692-696. doi:10.1054/bjoc.2001.1964
- Beganovic, S. (2009). Clinical significance of the KRAS mutation. *Bosn J Basic Med Sci*, 9 Suppl 1(Suppl 1), S17-S20. doi:10.17305/bjbms.2009.2749

- De Bruijn, M. T., Raats, D. A., Tol, J., Hinrichs, J., Teerenstra, S., Punt, C. J., . . . Kranenburg, O. (2011). Combined KRAS and TP53 mutation status is not predictive in CAPOX-treated metastatic colorectal cancer. *Anticancer Res*, 31(4), 1379-1385. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21508389>
- de la Chapelle, A., & Hampel, H. (2010). Clinical relevance of microsatellite instability in colorectal cancer. *J Clin Oncol*, 28(20), 3380-3387. doi:10.1200/JCO.2009.27.0652
- De Roock, W., Claes, B., Bernasconi, D., De Schutter, J., Biesmans, B., Fountzilias, G., . . . Tejpar, S. (2010). Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. *Lancet Oncol*, 11(8), 753-762. doi:10.1016/S1470-2045(10)70130-3
- De Roock, W., De Vriendt, V., Normanno, N., Ciardiello, F., & Tejpar, S. (2011). KRAS, BRAF, PIK3CA, and PTEN mutations: implications for targeted therapies in metastatic colorectal cancer. *Lancet Oncol*, 12(6), 594-603. doi:10.1016/S1470-2045(10)70209-6
- Gala, M. K., Mizukami, Y., Le, L. P., Moriichi, K., Austin, T., Yamamoto, M., . . . Chung, D. C. (2014). Germline mutations in oncogene-induced senescence pathways are associated with multiple sessile serrated adenomas. *Gastroenterology*, 146(2), 520-529. doi:10.1053/j.gastro.2013.10.045
- Gonzalez-Pons, M., & Cruz-Correa, M. (2015). Colorectal Cancer Biomarkers: Where Are We Now? *Biomed Res Int*, 2015, 149014. doi:10.1155/2015/149014

- Groden, J., Thliveris, A., Samowitz, W., Carlson, M., Gelbert, L., Albertsen, H., . . . et al. (1991). Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene. *Cell*, 66(3), 589-600. doi:10.1016/0092-8674(81)90021-0
- Haraldsdottir, S., Hampel, H., Tomsic, J., Frankel, W. L., Pearlman, R., de la Chapelle, A., & Pritchard, C. C. (2014). Colon and endometrial cancers with mismatch repair deficiency can arise from somatic, rather than germline, mutations. *Gastroenterology*, 147(6), 1308-1316 e1301. doi:10.1053/j.gastro.2014.08.041
- Hokazono, K., Ueki, T., Nagayoshi, K., Nishioka, Y., Hatae, T., Koga, Y., . . . Tanaka, M. (2014). A CpG island methylator phenotype of colorectal cancer that is contiguous with conventional adenomas, but not serrated polyps. *Oncol Lett*, 8(5), 1937-1944. doi:10.3892/ol.2014.2430
- Hsu, H. C., Thiam, T. K., Lu, Y. J., Yeh, C. Y., Tsai, W. S., You, J. F., . . . Yang, T. S. (2016). Mutations of KRAS/NRAS/BRAF predict cetuximab resistance in metastatic colorectal cancer patients. *Oncotarget*, 7(16), 22257-22270. doi:10.18632/oncotarget.8076
- Ichimura, N., Shinjo, K., An, B., Shimizu, Y., Yamao, K., Ohka, F., . . . Kondo, Y. (2015). Aberrant TET1 Methylation Closely Associated with CpG Island Methylator Phenotype in Colorectal Cancer. *Cancer Prev Res (Phila)*, 8(8), 702-711. doi:10.1158/1940-6207.CAPR-14-0306
- Jen, J., Kim, H., Piantadosi, S., Liu, Z. F., Levitt, R. C., Sistonon, P., . . . Hamilton, S. R. (1994). Allelic loss of chromosome 18q and prognosis in colorectal cancer. *N*

*Engl J Med*, 331(4), 213-221.  
doi:10.1056/NEJM199407283310401

Kandioler, D., Mittlbock, M., Kappel, S., Puhalla, H., Herbst, F., Langner, C., . . . Colorectal Study, G. (2015). TP53 Mutational Status and Prediction of Benefit from Adjuvant 5-Fluorouracil in Stage III Colon Cancer Patients. *EBioMedicine*, 2(8), 825-830. doi:10.1016/j.ebiom.2015.06.003

Knoblauch, M., Kuhn, F., von Ehrlich-Treuenstatt, V., Werner, J., & Renz, B. W. (2023). Diagnostic and Therapeutic Management of Early Colorectal Cancer. *Visc Med*, 39(1), 10-16. doi:10.1159/000526633

Konishi, T., Shimada, Y., Hsu, M., Tufts, L., Jimenez-Rodriguez, R., Cercek, A., . . . Weiser, M. R. (2018). Association of Preoperative and Postoperative Serum Carcinoembryonic Antigen and Colon Cancer Outcome. *JAMA Oncol*, 4(3), 309-315. doi:10.1001/jamaoncol.2017.4420

Kunkel, T. A., & Erie, D. A. (2005). DNA mismatch repair. *Annu Rev Biochem*, 74, 681-710. doi:10.1146/annurev.biochem.74.082803.133243

Li, X. L., Zhou, J., Chen, Z. R., & Chng, W. J. (2015). P53 mutations in colorectal cancer - molecular pathogenesis and pharmacological reactivation. *World J Gastroenterol*, 21(1), 84-93. doi:10.3748/wjg.v21.i1.84

Liu, J., Zhang, C., Hu, W., & Feng, Z. (2015). Tumor suppressor p53 and its mutants in cancer metabolism. *Cancer Lett*, 356(2 Pt A), 197-203. doi:10.1016/j.canlet.2013.12.025

Liu, K. J., Wang, C. C., Chen, L. T., Cheng, A. L., Lin, D. T., Wu, Y. C., . . . Whang-Peng, J. (2004). Generation of carcinoembryonic antigen (CEA)-specific T-cell

responses in HLA-A\*0201 and HLA-A\*2402 late-stage colorectal cancer patients after vaccination with dendritic cells loaded with CEA peptides. *Clin Cancer Res*, 10(8), 2645-2651. doi:10.1158/1078-0432.ccr-03-0430

Markowitz, S. D., & Bertagnolli, M. M. (2009). Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer. *N Engl J Med*, 361(25), 2449-2460. doi:10.1056/NEJMra0804588

Moreira, L., Munoz, J., Cuatrecasas, M., Quintanilla, I., Leoz, M. L., Carballal, S., . . . Gastrointestinal Oncology Group of the Spanish Gastroenterological, A. (2015). Prevalence of somatic mutl homolog 1 promoter hypermethylation in Lynch syndrome colorectal cancer. *Cancer*, 121(9), 1395-1404. doi:10.1002/cncr.29190

Nazemalhosseini Mojarad, E., Kuppen, P. J., Aghdaei, H. A., & Zali, M. R. (2013). The CpG island methylator phenotype (CIMP) in colorectal cancer. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*, 6(3), 120-128. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24834258>

O'Brien, M. J. (2007). Hyperplastic and serrated polyps of the colorectum. *Gastroenterol Clin North Am*, 36(4), 947-968, viii. doi:10.1016/j.gtc.2007.08.007

Palles, C., Cazier, J. B., Howarth, K. M., Domingo, E., Jones, A. M., Broderick, P., . . . Tomlinson, I. (2013). Germline mutations affecting the proofreading domains of POLE and POLD1 predispose to colorectal adenomas and carcinomas. *Nat Genet*, 45(2), 136-144. doi:10.1038/ng.2503

Pino, M. S., & Chung, D. C. (2010). The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology*, 138(6), 2059-2072. doi:10.1053/j.gastro.2009.12.065

- Popat, S., & Houlston, R. S. (2005). A systematic review and meta-analysis of the relationship between chromosome 18q genotype, DCC status and colorectal cancer prognosis. *Eur J Cancer*, 41(14), 2060-2070. doi:10.1016/j.ejca.2005.04.039
- Poynter, J. N., Siegmund, K. D., Weisenberger, D. J., Long, T. I., Thibodeau, S. N., Lindor, N., . . . Colon Cancer Family Registry, I. (2008). Molecular characterization of MSI-H colorectal cancer by MLHI promoter methylation, immunohistochemistry, and mismatch repair germline mutation screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 17(11), 3208-3215. doi:10.1158/1055-9965.EPI-08-0512
- Przybyłowska, K., Kabzinski, J., Sygut, A., Dziki, L., Dziki, A., & Majsterek, I. (2013). An association selected polymorphisms of XRCC1, OGG1 and MUTYH gene and the level of efficiency oxidative DNA damage repair with a risk of colorectal cancer. *Mutat Res*, 745-746, 6-15. doi:10.1016/j.mrfmmm.2013.04.002
- Rajagopalan, H., Bardelli, A., Lengauer, C., Kinzler, K. W., Vogelstein, B., & Velculescu, V. E. (2002). Tumorigenesis: RAF/RAS oncogenes and mismatch-repair status. *Nature*, 418(6901), 934. doi:10.1038/418934a
- Ryan, S. D., Britigan, E. M., Zasadil, L. M., Witte, K., Audhya, A., Roopra, A., & Weaver, B. A. (2012). Up-regulation of the mitotic checkpoint component Mad1 causes chromosomal instability and resistance to microtubule poisons. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109(33), E2205-2214. doi:10.1073/pnas.1201911109
- Salovaara, R., Loukola, A., Kristo, P., Kaariainen, H., Ahtola, H., Eskelinen, M., . . . de la Chapelle, A. (2000). Population-based molecular detection of hereditary

- nonpolyposis colorectal cancer. *J Clin Oncol*, 18(11), 2193-2200. doi:10.1200/JCO.2000.18.11.2193
- Shin, H. J., Baek, K. H., Jeon, A. H., Park, M. T., Lee, S. J., Kang, C. M., . . . Lee, C. W. (2003). Dual roles of human BubR1, a mitotic checkpoint kinase, in the monitoring of chromosomal instability. *Cancer Cell*, 4(6), 483-497. doi:10.1016/s1535-6108(03)00302-7
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Fuchs, H. E., & Jemal, A. (2022). Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin*, 72(1), 7-33. doi:10.3322/caac.21708
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2018). Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin*, 68(1), 7-30. doi:10.3322/caac.21442
- Tahara, T., Yamamoto, E., Madireddi, P., Suzuki, H., Maruyama, R., Chung, W., . . . Estecio, M. R. (2014). Colorectal carcinomas with CpG island methylator phenotype 1 frequently contain mutations in chromatin regulators. *Gastroenterology*, 146(2), 530-538 e535. doi:10.1053/j.gastro.2013.10.060
- Tariq, K., & Ghias, K. (2016). Colorectal cancer carcinogenesis: a review of mechanisms. *Cancer Biol Med*, 13(1), 120-135. doi:10.28092/j.issn.2095-3941.2015.0103
- Van Cutsem, E., Kohne, C. H., Lang, I., Folprecht, G., Nowacki, M. P., Cascinu, S., . . . Ciardiello, F. (2011). Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status. *J Clin Oncol*, 29(15), 2011-2019. doi:10.1200/JCO.2010.33.5091
- Wang, Z., Cummins, J. M., Shen, D., Cahill, D. P., Jallepalli, P. V., Wang, T. L., . . . Lengauer, C. (2004). Three classes

of genes mutated in colorectal cancers with chromosomal instability. *Cancer Res*, 64(9), 2998-3001. doi:10.1158/0008-5472.can-04-0587

Zhao, Y., Ando, K., Oki, E., Ikawa-Yoshida, A., Ida, S., Kimura, Y., . . . Maehara, Y. (2014). Aberrations of BUBR1 and TP53 gene mutually associated with chromosomal instability in human colorectal cancer. *Anticancer Res*, 34(10), 5421-5427. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25275037>

# **BÖBREK NAKLİNDE SİRKÜLER RNA'LAR: TANI, TEDAVİ VE GELECEK YÖNELİMLER**

**Eda BALKAN<sup>1</sup>**

**Murat KIZILKAYA<sup>2</sup>**

## **1. GİRİŞ**

Böbrek nakli, son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) olan hastalar için altın standart tedavi yöntemidir. GODT verilerine göre 2024 yılında 110.467 böbrek nakli raporlanmıştır (Martin et al., 2026) ve 5 yıllık greft sağkalım oranları, donör tipi ve hasta özelliklerine bağlı olarak değişmekle birlikte, genel olarak %70–80 aralığında bildirilmektedir (Lentine et al., 2025). Ancak, greft sağkalımını etkileyen çok sayıda faktör bulunmaktadır: iskemi-reperfüzyon hasarı, akut ve kronik rejeksiyon episodları, immünsüpresif ilaç toksisitesi ve kronik allogreft disfonksiyonu. Bu faktörlerin erken tanısı ve etkili yönetimi, uzun dönem greft sağkalımı için kritik öneme sahiptir.

Son yıllarda, non-kodlayan RNA'lar (ncRNA) ve özellikle sirküler RNA'lar (circRNA), böbrek nakli sonuçlarının anlaşılmasında ve iyileştirilmesinde önemli bir araştırma alanı olarak öne çıkmıştır (Ghods, 2019). Sirküler RNA'lar, kovalent olarak kapalı halka yapısına sahip tek zincirli RNA molekülleridir. İlk olarak 1970'lerde bitki viroidleri olarak keşfedilmiş olsalar da, memeli hücrelerinde yaygın

---

<sup>1</sup> Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Erzurum, Türkiye. ORCID: 0000-0002-7065-8161.

<sup>2</sup> Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Ağrı, Türkiye. ORCID: 0000-0001-7674-4223.

ekspresyonları ve fonksiyonel önemi ancak son on yılda anlaşılmaya başlanmıştır (Yu, Xie, Huang, & Zhou, 2021).

CircRNA'lar, açık uçları olmadığı için ekzonükleaz aracılı degradasyona dirençlidir ve bu özellik onları lineer RNA'lardan daha stabil kılmaktadır. Bu stabilite, circRNA'ları biyobelirteç olarak kullanmak için umut verici adaylar haline getirmektedir (Kölling et al., 2019; Moore IV, Merchant, & Uchida, 2019). Böbrek naklinde circRNA'ların rolü çok yönlü olup, mevcut çalışmalar bu moleküllerin rejeksiyon süreçlerinde potansiyel biyobelirteç adayları olarak, iskemi-reperfüzyon hasarı ve kronik allogreft disfonksiyonu ile ilişkili moleküler yollarda düzenleyici roller üstlenebileceğini düşündürmektedir (Kölling et al., 2019; Kölling & Lorenzen, 2020; van Zonneveld, Zhao, Rotmans, & Bijkerk, 2023).

Bu bölümde, circRNA'ların böbrek nakli bağlamındaki çeşitli rolleri ve klinik potansiyellerine ilişkin güncel araştırmalar detaylı olarak incelenecektir.

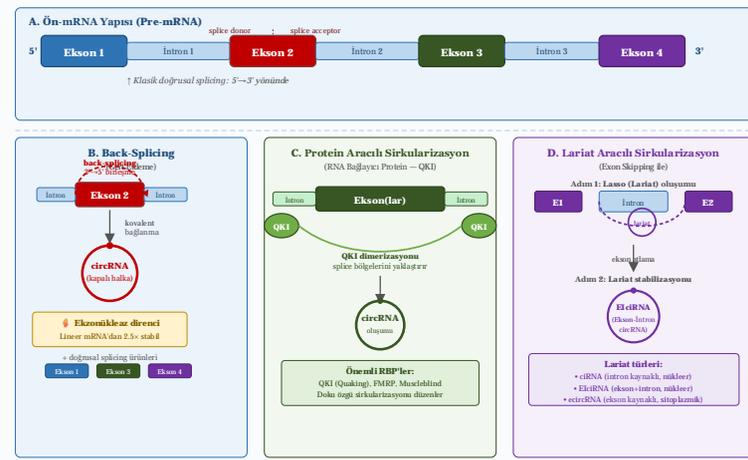
## **2. SİRKÜLER RNA'LARIN BİYOLOJİSİ VE ÖZELLİKLERİ**

### **2.1. CircRNA Oluşumu ve Yapısal Özellikleri**

CircRNA'lar, pre-mRNA'nın alternatif splicing mekanizması ile oluşturulur. Klasik lineer splicing'den farklı olarak, 'back-splicing' (geri-ekleme) olarak adlandırılan bir mekanizma ile downstream (3') splice donor bölgesi, upstream (5') splice acceptor bölgesi ile birleşir. Bu işlem sonucunda kovalent olarak kapalı, sürekli bir halka yapısı oluşur (Yu et al., 2021).

## CircRNA'ların oluşumunda birkaç temel mekanizma rol oynar:

- İntron Çiftleşmesi: Flanking intronlarda bulunan tamamlayıcı diziler (ters tekrar dizileri) birbirine bağlanarak ekzonların back-splicing'ini kolaylaştırır.
- RNA Bağlayıcı Protein Aracılı Sirkularizasyon: Quaking (QKI) gibi RNA bağlayıcı proteinler, splice sitelerini bir araya getirerek circRNA oluşumunu destekler (Zhang, Jiang, Qian, Yan, & Xu, 2023).
- Lariat-driven Sirkularizasyon: Splicing sonrası oluşan lariat yapıları, spesifik koşullarda stabilize edilip circRNA'ya dönüşebilir.



**Şekil 1. CircRNA Oluşum Mekanizması.** A paneli: **Pre-mRNA'nın ekson-intron yapısı (5'→3')**. B paneli: **Back-splicing — Ekson 2'nin kovalent kapalı bir halka yapısı oluşturacak şekilde geri-eikleme mekanizması ile sirkularizasyonu.** C paneli: **QKI proteini aracılı sirkularizasyon mekanizması.** D paneli: **Lariat (lasso) aracılı yol — ciRNA, EICiRNA ve ecircRNA türleri (Yu et al., 2021; Zhang et al., 2023).**

## 2.2. CircRNA'ların Fonksiyonel Mekanizmaları

CircRNA'lar hücrede çeşitli fonksiyonlar icra ederler (Yu et al., 2021; Zhang et al., 2023):

- **MicroRNA Sünger Aktivitesi:** CircRNA'ların en iyi karakterize edilmiş fonksiyonu, microRNA'lar (miRNA) için 'moleküler sünger' görevi görerek, bu miRNA'ların hedef mRNA'lara bağlanmasını inhibe etmeleridir. Örneğin, ciRS-7 (CDR1as), 70'ten fazla miR-7 bağlanma bölgesi içerir ve bu miRNA'yı sekestre ederek hedef genlerinin ekspresyonunu artırır.
- **Protein Etkileşimleri:** CircRNA'lar, spesifik proteinlere bağlanarak onların aktivitesini, lokalizasyonunu veya stabilitesini modüle edebilirler. Bu etkileşimler, sinyal yollarının düzenlenmesinde önemli rol oynar.
- **Translasyon Kapasitesi:** Sınırlı sayıda circRNA'nın, internal ribosome entry site (IRES) veya m6A modifikasyonları aracılığıyla protein kodlayabildiği bildirilmiştir (Wasinska-Kalwa et al., 2025).
- **Transkripsiyon Düzenleme:** Nükleer circRNA'lar, gen ekspresyonunu transkripsiyon seviyesinde düzenleyebilir veya alternatif splicing'i etkileyebilirler.

**Tablo 1. CircRNA'ların Lineer RNA'lardan Temel Farkları**

Özellik	CircRNA	Lineer mRNA
Yapı	Kovalent kapalı halka	5' ve 3' uçları olan lineer
Stabilite	Yüksek (ekzonükleaz dirençli)	Düşük (ekzonükleaz hassas)
Yarı ömür	Genellikle daha uzun (hücre ve circRNA türüne göre değişken)	Kısa
Başlıca tanımlanan fonksiyonlar	Gen regülasyonu (miRNA süngerliği, protein etkileşimleri)	Protein translasyonu
Biyobelirteç potansiyeli	Yüksek (vücut sıvılarında stabil)	Düşük (hızlı degradasyon)

### **2.3. CircRNA'ların Stabilite ve Dağılım Özellikleri**

CircRNA'ların kapalı halka yapısı, onlara lineer RNA'lara kıyasla önemli avantajlar sağlar. 5' ve 3' uçların yokluğu nedeniyle ekzonükleaz degradasyonuna dirençlidirler. Yapılan çalışmalar, circRNA'ların, lineer mRNA'lara kıyasla daha uzun yarı ömre sahip olduğunu göstermiştir (Kölling et al., 2019). Bu stabilite özelliği, circRNA'ları vücut sıvılarında (kan, idrar, tükürük) uzun süre kalabilir hale getirerek umut verici biyobelirteç adayları haline getirmektedir.

CircRNA'lar hücre tipine ve dokuya özgü ekspresyon paternleri gösterirler. Özellikle beyin dokusunda yüksek düzeyde eksprese edilirler, ancak böbrek, karaciğer ve diğer organlarda da önemli roller üstlenirler. Böbrek dokusunda, podositler, tübüler epitel hücreleri ve mezangial hücrelerde spesifik circRNA'lar tanımlanmıştır (Moore IV et al., 2019).

## **3. BÖBREK NAKLİNDE REJEKSİYON BİYOBELİRTECİ OLARAK SİRKÜLER RNA'LAR**

### **3.1. Akut T Hücre Aracılı Rejeksiyonda CircRNA'lar**

Akut rejeksiyon, böbrek nakli sonrası greft kaybının önemli nedenlerinden biridir. Geleneksel tanı yöntemleri invaziv böbrek biyopsisini gerektirmekte ve serum kreatinin gibi geç belirteçlere dayanmaktadır. CircRNA'lar, non-invaziv rejeksiyon tanısı için umut verici alternatifler sunmaktadır (Kölling et al., 2019).

Kölling ve arkadaşlarının öncü çalışması (2019), akut T hücre aracılı rejeksiyon geçiren böbrek nakli hastalarının idrarında circRNA'ların varlığını ve tanısal potansiyelini göstermiştir. Araştırmacılar, global circRNA ekspresyon profili

analizi yaparak birkaç circRNA'nın akut rejeksiyonda disregüle olduğunu saptamışlardır (Kölling et al., 2019).

Çalışmada hsa\_circ\_0001334 adlı circRNA, akut rejeksiyonu olan hastalarda kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı şekilde artmış bulunmuştur. Bu circRNA, MCM2 (Minichromosome Maintenance Complex Component 2) geninden köken alır (Moore IV et al., 2019). MCM2'nin daha önce renal hücreli karsinomda ve Wilms tümöründe prognostik proliferatif belirteç olarak rapor edilmesi, hsa\_circ\_0001334'ün böbrek kökenli olabileceğini düşündürmektedir.

Validasyon çalışmalarında (Kölling et al., 2019):

- 62 akut rejeksiyon hastası, 10 başarılı antirejeksiyon tedavisi almış hasta, 18 rejeksiyonsuz kontrol transplant hastası ve 13 üriner sistem enfeksiyonu olan stabil transplant hastası değerlendirilmiştir.
- Hsa\_circ\_0001334 konsantrasyonları, akut T hücre aracılı rejeksiyonu olan hastalarda, rejeksiyon bulgusu olmayan stabil transplant kontrollerine kıyasla anlamlı şekilde artmıştır ( $p < 0.001$ ).
- Bu circRNA seviyelerinin üriner sistem enfeksiyonlu hastalarda farklılık göstermemesi ( $p = 0.42$ ), spesifitesini doğrulamıştır.
- ROC analizi ile hsa\_circ\_0001334'ün akut rejeksiyonu tanımda 0.85 AUC değeri (95% CI: 0.78-0.92), %70.11 sensitivite ve %92.31 spesifisite gösterdiği saptanmıştır.

Özellikle önemli olan, hsa\_circ\_0001334 seviyelerinin serum kreatinin yükselmeden önce, subklinik zaman noktalarında artış gösterebilmesidir (Kölling & Lorenzen, 2020). Ayrıca, başarılı antirejeksiyon tedavisi sonrası bu circRNA seviyelerinin normalize olması, tedavi yanıtını izlemede potansiyel kullanımını işaret etmektedir.

### 3.2. Antikor Aracılı Rejeksiyonda CircRNA'lar

Antikor aracılı rejeksiyon (ABMR), özellikle kronik formda, uzun dönem greft kaybının başlıca nedenidir (Codina, Manonelles, Tormo, Sola, & Cruzado, 2021). ABMR'nin tanısı daha da zorlayıcıdır ve donör spesifik antikorların (DSA) varlığı, C4d pozitifliği ve histolojik bulgular gerektirir.

Güncel araştırmalar, ABMR'nin moleküler özelliklerinin anlaşılmasında circRNA profillerinin potansiyel katkı sağlayabileceği öne sürülmektedir. Ekstrasellüler veziküller (EV) içinde taşınan circRNA'lar, immün yanıtın karakterizasyonunda önemli bilgiler sağlayabilir. Özellikle, T hücre kaynaklı ekzozomların taşıdığı RNA profillerinin, ABMR ve T hücre aracılı rejeksiyonu (TCMR) birbirinden ayırmada potansiyel göstermektedir.

El Fekih ve arkadaşlarının 2025 yılında yayınlanan çalışması, ekzozomal mRNA bazlı bir idrar testi (ExoTRU) geliştirerek TCMR ve ABMR'yi ayırt etmede başarılı olmuştur. Bu test, ekzozomal mRNA'lardan oluşan bir gen imzası kullanarak TCMR ve ABMR ayırımında yüksek tanısal performans göstermiştir. CircRNA'ların bu tür mRNA-temelli testlere tamamlayıcı moleküler katmanlar olarak entegre edilmesinin, tanısal özgüllüğü artırıp artırmayacağı gelecekteki çalışmalarda araştırılmalıdır (El Fekih et al., 2025).

**Tablo 2. Böbrek Nakli ve Deneysel Modellerde Tanımlanmış CircRNA'lar ve Bildirilen Roller**

CircRNA	Kaynak Gen	Klinik Rol	Performans
hsa_circ_0001334	MCM2	Akut T hücre aracılı rejeksiyon biyobelirteci	AUC: 0.85, Sens: %70, Spes: %92
mmu_circ_0001295	Bilinmiyor*	İskemi-reperfüzyon hasarında koruyucu (IL-6, TNF- $\alpha$ inhibisyonu)	Preklinik model
circRNA DENND4C	DENND4C	IRI'de piroptoz inhibisyonu (miR-138-5p/FOXO3a yolu)	Preklinik model
ciRS-7 (CDR1as)	CDR1	miR-7 süngeri (70+ bağlanma bölgesi)	Potansiyel terapötik hedef

\* Literatürde henüz tanımlanmamıştır.

### **3.3. CircRNA'ların Tanısal Üstünlükleri**

CircRNA'ların biyobelirteç olarak kullanımının birkaç önemli avantajı vardır (Kölling & Lorenzen, 2020; Moore IV et al., 2019):

- Non-invaziv Örnekleme: İdrarda stabil şekilde bulunabilmeleri, invaziv böbrek biyopsisine alternatif sunar.
- Yüksek Stabilite: Kapalı halka yapıları sayesinde RNase degradasyonuna dirençlidirler, bu da oda sıcaklığında ve 4°C'de uzun süreli saklama imkanı tanır.
- Erken Tanı Potansiyeli: Serum kreatinininden önce, subklinik rejeksiyon fazında yükselebilirler.
- Tedavi Yanıtı İzlemi: Başarılı antirejeksiyon tedavisi sonrası normalizasyon göstererek tedavi etkinliğini değerlendirme imkanı sunarlar.
- Kolay Tespit: RT-PCR ile back-splicing bölgelerine özgü primerler kullanılarak spesifik olarak tespit edilebilirler.

## **4. İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA SİRKÜLER RNA'LARIN ROLÜ**

### **4.1. İskemi-Reperfüzyon Hasarının Patogenezi**

İskemi-reperfüzyon hasarı (ischemia–reperfusion injury, IRI), böbrek naklinin kaçınılmaz bileşenlerinden biri olup erken greft fonksiyon bozukluğu ve uzun dönem greft kaybının önemli nedenleri arasında yer almaktadır (Salvadori, Rosso, & Bertoni, 2015). Donör organın çıkarılması ile alıcıya nakli arasındaki süreçte böbrek dokusu hem sıcak hem de soğuk iskemiye maruz kalmakta, reperfüzyon sırasında kan akımının yeniden

sağlanması ise paradoksal olarak doku hasarını artırabilmektedir (Zhao, Alam, Soo, George, & Ma, 2018).

IRI'nin patogenezi çok boyutlu olup enerji metabolizmasında bozulma, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimi, inflamatuvar yanıtın aktivasyonu ve hücre ölümü süreçlerini içermektedir (Lasorsa et al., 2024).

Oksijen yetersizliği sırasında mitokondriyal ATP üretimi azalmakta, anaerobik glikolize geçiş hücre içi asidoz ve iyon dengesizliğine yol açmaktadır. Reperfüzyonla birlikte artan ROS üretimi lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarını tetiklemektedir. Hasar gören hücrelerden salınan hasarla ilişkili moleküler paternler (damage-associated molecular patterns, DAMPs), Toll-like reseptörler (TLR'ler) aracılığıyla doğal bağışıklık sistemini aktive ederek NF- $\kappa$ B sinyal yolağı üzerinden proinflamatuvar sitokinlerin salınımına neden olmaktadır (Zhao et al., 2018). Bu süreçler apoptozun yanı sıra nekroptoz ve piroptoz gibi programlı nekrotik hücre ölüm yollarının da devreye girmesiyle sonuçlanmaktadır.

#### **4.2. CircRNA'ların IRI'deki Düzenleyici Rolü**

Son yıllarda yapılan çalışmlar, sirküler RNA'ların (circRNA) IRI patogenezinde çeşitli moleküler yolaklar üzerinden düzenleyici roller üstlenebileceğini düşündürmektedir (Y. Li, Waheed, & Sun, 2025). CircRNA'lar; miRNA süngerleme kapasiteleri, protein etkileşimleri ve sinyal yolakları üzerindeki dolaylı etkileri aracılığıyla inflamatuvar yanıtın, hücre sağkalımının ve hücresel stres yanıtlarının modülasyonunda yer alabilmektedir.

Preklinik modellerde gerçekteştirilen bir çalışmada, hipoksik koşullar altında ekzozomlarda mmu\_circ\_0001295 düzeylerinin arttığı ve bu circRNA'nın inflamasyonun baskın olduğu akut böbrek hasarı modellerinde IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir

(S. Cao et al., 2022). Bu bulgular, özellikle inflamatuvar bileşenin ön planda olduğu IRI benzeri durumlarda circRNA'ların düzenleyici potansiyeline işaret etmektedir.

Başka bir deneysel çalışmada ise idrar kökenli kök hücrelerden elde edilen ekzozomlarda bulunan circRNA DENND4C'nin, miR-138-5p ile etkileşerek FOXO3a ekspresyonunu artırdığı; bu mekanizmanın hücre proliferasyonunu desteklerken NLRP3 inflamamazom aktivasyonunu baskılayabildiği bildirilmiştir (Yang et al., 2024). Bu yolak üzerinden piroptozun ve akut böbrek hasarının ilerlemesinin sınırlanabileceği ne srlmektedir.

Mevcut verilerin tamamı deneysel ve prelinik düzeyde olup, circRNA'ların böbrek nakline özgü IRI süreçlerindeki rollerinin klinik olarak doğrulanması için ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

### **4.3. IRI'de CircRNA'ların Terapötik Potansiyeli**

CircRNA'ların IRI ile ilişkili moleküler yolaklardaki olası düzenleyici rolleri, gelecekte araştırılabilecek terapötik stratejiler açısından ilgi çekmektedir (Hu, Jin, Zhang, Ding, & Li, 2025). Özellikle ekzozom aracılı taşıma sistemleri, circRNA'ların hedef dokuya ulaştırılması için potansiyel bir platform sunmaktadır. Mezenkimal kök hücre (MSC) kökenli ekzozomların, taşıdıkları RNA içerikleri aracılığıyla inflamatuvar yanıtı, otofajiyi ve fibrotik süreçleri modüle edebildiği prelinik çalışmalarda gösterilmiştir.

IRI bağlamında otofaji, hücre sağkalımını destekleyen koruyucu bir mekanizma olmakla birlikte aşırı aktivasyonu hücre ölümünü tetikleyebilmektedir. CircRNA'ların, miRNA ve protein etkileşimleri yoluyla otofajinin bu hassas dengesini düzenleyebileceği dşnlmektedir (Y. Li et al., 2025). Ayrıca, hipoksiye yanıt yolaklarının önemli düzenleyicilerinden biri olan

HIF-1 $\alpha$  sinyalizasyonunun circRNA'lar tarafından dolaylı olarak modüle edilebileceği öne sürölmektedir (Hu et al., 2025).

Sınırlı sayıdaki prelinik çalışma, sentetik circRNA'ların veya circRNA içeren ekzozomların nakil öncesi ya da nakil sırasında uygulanmasının IRI şiddeti üzerindeki etkilerinin araştırılabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, bu yaklaşımların klinik uygulamaya geçebilmesi için güvenlik, hedefleme özgülüğü ve etkinlik açısından kapsamlı translyonel çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

## **5. KRONİK ALLOGREFT DİSFONKSİYONUNDA SİRKÜLER RNA'LAR**

### **5.1. Kronik Allogreft Hasarının Mekanizmaları**

Kronik allogreft disfonksiyonu, böbrek nakli sonrası uzun dönem greft kaybının başlıca nedenlerinden biridir ve klinik olarak progresif greft fonksiyon kaybı ile karakterizedir. Histopatolojik düzeyde bu süreç, interstisyel fibrozis ve tübüler atrofi (IF/TA) ile tanımlanmakta olup, zaman içinde geri dönüşümsüz yapısal değişikliklere yol açmaktadır (Codina et al., 2021).

IF/TA'nın görülme sıklığı transplantasyon sonrası zamanla artmakta; bildirilen oranlar hasta popölasyonu, biyopsi zamanlaması ve kullanılan histolojik değerlendirme kriterlerine bağlı olarak önemli değişkenlik göstermektedir. Kronik allogreft hasarının patogenezi multifaktöriyel olup, hem immünolojik hem de immün-dışı mekanizmaların etkileşimi sonucu gelişmektedir. Bu faktörler arasında sublinik rejeksiyon atakları ve antikor aracılı rejeksiyon (ABMR), kalsinörin inhibitörü toksisitesi, iskemi-reperfüzyon hasarının uzun dönem etkileri, rekürren veya de novo glomerüler hastalıklar, viral enfeksiyonlar (özellikle BK

poliomavirüs) ve vasküler patolojiler yer almaktadır (Codina et al., 2021).

Bu kronik hasar süreci, fibroblast aktivasyonu, miyofibroblast dönüşümü, ekstrasellüler matris (ECM) birikimi ve persistan inflamasyonun birlikte ilerlediği karmaşık bir biyolojik ağ tarafından yönlendirilmektedir.

## **5.2. CircRNA'ların Fibrozis Süreçlerindeki Rolü**

Son yıllarda artan sayıda çalışma, sirküler RNA'ların (circRNA) renal fibrozis patogeneğinde çeşitli sinyal yolları üzerinden düzenleyici roller üstlenebileceğini düşündürmektedir (Wei et al., 2023). CircRNA'lar; miRNA süngerleme kapasiteleri, protein etkileşimleri ve transkripsiyonel düzenleme üzerindeki dolaylı etkileri aracılığıyla fibrotik yanıtın farklı basamaklarını modüle edebilmektedir.

Fibrozis gelişiminde merkezi rol oynayan TGF- $\beta$ /Smad sinyal yolağı, circRNA'lar tarafından dolaylı olarak düzenlenebilen başlıca mekanizmalardan biridir. Bazı circRNA'ların TGF- $\beta$ 1 ekspresyonunu veya Smad2/3 fosforilasyonunu etkileyerek fibroblast aktivasyonu ve ECM üretimini modüle edebileceği öne sürülmektedir (Wei et al., 2023).

Benzer şekilde, miyofibroblast diferansiyasyonu ve fibrotik yeniden yapılanmada önemli olan Wnt/ $\beta$ -katenin sinyal yolağının, deneysel renal fibrozis modellerinde RNA-temelli düzenleyici ağlar aracılığıyla aktive olabildiği gösterilmiştir (Hu et al., 2025). CircRNA'ların bu yolak üzerinde dolaylı düzenleyici etkiler gösterebileceği düşünülmektedir.

Epitel-mezenkimal transformasyon (EMT), kronik fibrozisin ilerlemesinde önemli bir diğer mekanizma olup, tübüler epitel hücrelerinin mezenkimal fenotipe geçişi ile karakterizedir. CircRNA'ların, EMT ile ilişkili transkripsiyon faktörlerini ve

sinyal yollarını modüle ederek bu süreci destekleyici ya da baskılayıcı yönde etkileyebileceği bildirilmektedir (Wei et al., 2023). Ayrıca, kronik inflamasyonun sürdürülmesinde rol oynayan NF- $\kappa$ B ve NLRP3 inflamamazom yollarının da circRNA'lar tarafından dolaylı olarak düzenlenebileceği öne sürülmektedir (Zheng et al., 2024).

### **5.3. Kronik Allogreft Disfonksiyonunda CircRNA'ların Biyobelirteç Potansiyeli**

Preklinik ve sınırlı klinik çalışmalardan elde edilen bulgular, circRNA profillerinin kronik renal fibrozis ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Cao ve arkadaşlarının çalışmasında, üriner ekzozomlarda bulunan belirli circRNA'ların fibrotik böbrek hastalarında upregüle olduğu ve bu ekspresyon paternlerinin histolojik fibrozis derecesi ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir ( $r \approx 0.68$ ,  $p < 0.001$ ) (Y. Cao et al., 2022).

Bu tür ilişkiyel veriler, circRNA'ların kronik allogreft disfonksiyonunda potansiyel biyobelirteç adayları olarak değerlendirilebileceğine işaret etmektedir. Bununla birlikte, mevcut bulgular korelasyon düzeyinde olup, circRNA profillerinin ileri IF/TA gelişimini öngörme veya klinik karar süreçlerini yönlendirme kapasitesi henüz prospektif ve çok merkezli çalışmalarla doğrulanmamıştır. Dolayısıyla, circRNA temelli yaklaşımların klinik uygulamaya entegrasyonu için geniş ölçekli validasyon çalışmalarına ihtiyaç bulunmaktadır.

## **6. EKZOZOMAL SİRKÜLER RNA'LAR VE HÜCRELERARASI İLETİŞİM**

### **6.1. Ekzozomların Biyogenezi ve İçeriği**

Ekzozomlar, hücreler tarafından salgılanan ve yaklaşık 30–150 nm çapında olan ekstrasellüler veziküllerdir (EV). Multivesiküler endozomların (multivesicular endosomes, MVE)

plazma membranı ile kaynaşması sonucu hücre dışına salınırlar ve proteinler, lipidler ile çeşitli RNA türlerini (mRNA, miRNA, lncRNA ve circRNA) taşırlar. Ekzozomların içeriği, kaynak hücrenin fizyolojik veya patolojik durumunu yansıttığından, bu veziküller hücrelerarası iletişimde ve biyobelirteç araştırmalarında önemli bir rol oynamaktadır (G. Li et al., 2024).

Sirküler RNA'lar (circRNA), kovalent kapalı halkasal yapıları sayesinde ekzonükleazlara karşı dirençli olup, lineer RNA'lara kıyasla daha yüksek stabilite gösterirler. Bazı hücre tiplerinde circRNA'ların ekzozomlar içinde zenginleştiği ve bu zenginleşmenin RNA-bağlayıcı proteinler aracılığıyla gerçekteşebileceği bildirilmiştir (Zhang et al., 2023). Ancak bu durumun dokuya ve hastalığa özgü olduğu, tüm biyolojik sistemler için genellenemeyeceği dikkate alınmalıdır.

## **6.2. Böbrek Naklinde Ekzozomal CircRNA'ların Rolü**

İdrar ve kanda dolaşan ekzozomlar, böbreğin hücreSEL ve immün durumuna ilişkin gerçekte zamanlı bilgi sunma potansiyeline sahiptir. Böbrek nakli bağlamında, ekzozomal circRNA'lar henüz sınırlı sayıda çalışmada incelenmiş olmakla birlikte, rejeksiyon süreçlerinde rol oynayan immün ve fibrotik mekanizmalarla ilişkili olabilecek aday moleküller olarak değerlendirilmektedir (Y. Li et al., 2025; Zheng et al., 2024).

Mevcut veriler, rejeksiyon sırasında aktive olan immün hücrelerin (T hücreleri, dendritik hücreler ve makrofajlar) ekzozom salınımını artırabileceğini ve bu ekzozomların, immün yanıtla ilişkili RNA imzaları taşıyabileceğini göstermektedir. Bu bağlamda, T hücre kaynaklı ekzozomların, rejeksiyon sürecine eşlik eden immün aktivasyonu dolaylı olarak yansıtabileceği düşünölmektedir. Ayrıca, hasar görmüş tübüler epitel hücrelerinden salınan ekzozomların, fibrotik yanıtla ilişkili sinyal yollarını etkileyebilecek moleküler içerikler taşıyabileceği öne sürölmektedir. Bununla birlikte, bu mekanizmaların circRNA'lar

üzerinden doğrudan ve nedensel olarak kanıtlandığı çalışmalar henüz sınırlıdır ve çoğu veri deneysel veya mekanistik çıkarımlar düzeyindedir.

### **6.3. Ekzozomal CircRNA Tabanlı Tanısal Yaklaşımlar**

Günümüzde böbrek nakli rejeksiyonunun non-invaziv tanısına yönelik klinik uygulamaya en yakın yaklaşımlar, ekzozomal veya periferik kandan elde edilen mRNA ve protein temelli testlere dayanmaktadır. Örneğin, Park ve arkadaşları tarafından geliştirilen iKEA (integrated Kidney Exosome Analysis) platformu, idrar bazlı ekzozom analizini kullanarak böbrek nakli rejeksiyonunu saptamayı amaçlayan entegre bir sistemdir; ancak bu platform circRNA analizi içermemektedir (Park et al., 2017).

Benzer şekilde, El Fekih ve arkadaşlarının geliştirdiği ExoTRU testi, ekzozomal mRNA panelleri aracılığıyla rejeksiyonun tespitini ve T hücre aracılı rejeksiyon (TCMR) ile antikör aracılı rejeksiyonun (ABMR) ayrımını hedeflemekte olup, circRNA'ları kapsamamaktadır (El Fekih et al., 2025).

Bu bağlamda, ekzozomal circRNA'lar hâlen bağımsız tanısal testler olarak klinik kullanıma girmiş değildir. Güncel literatür, circRNA'ların gelecekte mRNA ve protein temelli testlere tamamlayıcı moleküler katmanlar olarak entegre edilebileceğini, özellikle çok-omik ve ceRNA (circRNA–miRNA–mRNA) ağlarına dayalı yaklaşımlarla tanısal özgülüğün artırılabilceğini düşündürmektedir. Ancak bu potansiyelin klinik karşılık bulabilmesi için, geniş örneklemliler, çok merkezli ve prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

## **7. BÖBREK NAKLİNDE SİRKÜLER RNA BAZLI TERAPÖTİK YAKLAŞIMLAR**

### **7.1. CircRNA'ların Terapötik Hedef Olarak Kullanımı**

Sirküler RNA'ların (circRNA) hücrenel süreçlerdeki düzenleyici rollerinin giderek daha iyi anlaşılması, bu molekülleri potansiyel terapötik hedefler olarak gündeme getirmiştir. CircRNA'ların miRNA süngerleme kapasitesi, protein bağlanma özellikleri ve yüksek stabiliteyi, özellikle inflamasyon ve fibrozis gibi kronik süreçlerde teorik bir müdahale alanı sunmaktadır (Hu et al., 2025; Wei et al., 2023).

Deneyisel çalışmalarda, patojenik süreçlerle ilişkilendirilen circRNA'ların antisense oligonükleotidler (ASO) veya RNA girişimi temelli yaklaşımlar ile inhibe edilmesinin, fibrotik ve inflamatuvar yanıtları modüle edebileceği öne sürülmüştür. Benzer şekilde, koruyucu veya düzenleyici özelliklere sahip circRNA'ların ekspresyonunun artırılmasının, hücrenel stres yanıtlarını dengeleyebileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte, bu stratejilerin böbrek nakli özelinde etkinliği henüz deneysel düzeydedir ve klinik uygulamaya aktarılabilmesi için kapsamlı prelinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

### **7.2. Mezenkimal Kök Hücre Kökenli Ekzozomlar**

Mezenkimal kök hücrelerden (MSC) türetilen ekzozomlar, hücrenel tedavilere kıyasla daha düşük immünojeniteye sahip olmaları ve hücre dışı iletişim yoluyla pleiotropik etkiler gösterebilmeleri nedeniyle rejeneratif tıp alanında ilgi çekmektedir (Lei, Liu, & Tao, 2026; G. Li et al., 2024) MSC kökenli ekzozomların anti-inflamatuvar, anti-apoptotik ve anti-fibrotik etkilerinin büyük ölçüde taşıdıkları RNA içerikleri aracılığıyla gerçekleştiği düşünülmektedir.

Mevcut çalışmaların önemli bir kısmı, MSC-ekzozomlarının miRNA içeriklerine odaklanmış olsa da, circRNA'ların da bu veziküller aracılığıyla hedef hücrelere taşınabileceği ve hücreyel yanıtları dolaylı olarak modüle edebileceği öne sürölmektedir. Böbrek nakli bağlamında, MSC-ekzozom temelli yaklaşımlar özellikle iskemi-reperfüzyon hasarı ve kronik allogreft disfonksiyonu gibi süreçlerde potansiyel destekleyici stratejiler olarak değerlendirilmektedir. Ancak bu yaklaşımlar henüz translasyonel aşamada olup, circRNA'ların bu süreçlerdeki özgül katkıları net olarak tanımlanmamıştır.

### **7.3. Sentetik CircRNA'lar ve Nano-Taşıyıcılar**

Doğal circRNA'lara alternatif olarak geliştirilen sentetik circRNA'lar, optimize edilmiş stabilite, özelleştirilmiş miRNA bağlanma bölgeleri ve kontrollü fonksiyonel özellikler sunma potansiyeline sahiptir (Wasinska-Kalwa et al., 2025). İn vitro transkripsiyon ve kimyasal sirkularizasyon tekniklerindeki ilerlemeler, terapötik amaçlı circRNA üretimini teknik olarak mümkün kılmıştır.

Bu moleküllerin hedef dokulara güvenli ve etkili biçimde ulaştırılabilmesi için çeşitli taşıyıcı sistemler araştırılmaktadır. Lipid nanopartiküller, polimerik nanopartiküller ve biyolojik kökenli veziküler yapılar, prelinik çalışmalarda umut verici sonuçlar göstermiştir. Bununla birlikte, bu taşıyıcı sistemlerin böbrek dokusuna özgül hedeflenmesi ve uzun dönem güvenlik profilleri halen araştırma aşamasındadır.

### **7.4. Klinik Çeviri ve Zorluklar**

CircRNA bazlı terapötik yaklaşımların klinik uygulamaya geçişi, önemli bilimsel ve düzenleyici zorluklar içermektedir. Standartlaştırılmış üretim süreçlerinin geliştirilmesi, hedef dokuya özgül iletim stratejilerinin optimize edilmesi ve olası off-target etkilerin ayrıntılı biçimde değerlendirilmesi bu sürecin temel gereklilikleri arasındadır (Wei et al., 2023).

Düzenleyici kurumlar, ekzozom ve RNA temelli tedavileri biyolojik ürünler kapsamında değerlendirmekte olup, güvenlik ve etkinlik açısından kapsamlı prelinik ve klinik veriler talep etmektedir. Günümüzde böbrek nakli alanında circRNA veya ekzozom temelli onaylanmış bir tedavi bulunmamaktadır. Bu nedenle, circRNA bazlı yaklaşımlar kısa vadeli klinik çözümlerden ziyade, uzun vadede geliştirilebilecek yenilikçi ve tamamlayıcı terapötik stratejiler olarak değerlendirilmektedir.

## **8. GELECEK YÖNELİMLER VE KLİNİK UYGULAMALAR**

### **8.1. Çok-Moleküllü Tanı Panelleri**

Gelecekte, circRNA'lar, miRNA'lar, lncRNA'lar ve proteinlerin kombinasyonundan oluşan çok-moleküllü tanı panellerinin geliştirilmesi ve klinik kullanım potansiyelinin araştırılması beklenmektedir. Makine öğrenmesi ve yapay zeka algoritmaları, bu karmaşık verileri analiz ederek rejeksiyon, IRI veya kronik hasarın erken ve doğru teşhisini sağlayacaktır (El Fekih et al., 2025).

Bu yaklaşım, Banff Minimally Invasive Biomarkers Working Group'un önerdiği gibi, biyopsinin yerini alması bile, biyopsinin gerekliliğini belirlemek veya biyopsi sonuçlarını tamamlamak için kullanılabilir (Berney et al., 2025).

### **8.2. Kişiselleştirilmiş Tıp ve Risk Stratifikasyonu**

Her hastanın circRNA profili, mevcut klinik ve immünolojik parametrelere tanımlayıcı olarak kişiselleştirilmiş risk değerlendirmesi ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir (Muhammad et al., 2025):

- Yüksek rejeksiyon riski olan hastaların belirlenmesinde circRNA profilleri, mevcut klinik göstergelerle birlikte destekleyici bir biyobelirteç olarak değerlendirilebilir.

- Düşük riskli hasta gruplarının tanımlanmasında circRNA profillerinin yardımcı olabileceği öngörölmekle birlikte, immünsüpresyon azaltımı klinik kararlarla birlikte değerlendirilmelidir.
- Fibrozis gelişme riski yüksek hastalar, erken anti-fibrotik tedavi alabilir (Muhammad et al., 2025).

### **8.3. Prekondisyoning Stratejileri**

Donor organların nakil öncesi kondisyonlanması, IRI'yi azaltmak için kritik bir stratejidir. Ex vivo perfüzyon sistemleri sırasında, koruyucu özelliklere sahip circRNA'lar içeren ekzozomların veya MSC-temelli yaklaşımların gelecekte araştırılabilecek stratejiler arasında yer aldığı düşünölmektedir (Hu et al., 2025).

Wasinska-Kalwa ve arkadaşlarının (2025) çalışması, insan pluripotent kök hücrelerinden türetilen böbrek organoidlerinin ex vivo domuz böbreklerine infüzyonunu ve normotermik makine perfüzyonunu göstermiştir. Benzer şekilde, circRNA yüklü ekzozomlar veya nano-taşıyıcıların ex vivo perfüzyon sırasında kullanımının teorik bir yaklaşım olarak araştırılması önerilmektedir (Wasinska-Kalwa et al., 2025).

### **8.4. Ksenotransplantasyonda CircRNA'ların Rolü**

Organ kıtlığını aşmak için genetik olarak modifiye edilmiş domuz böbreklerinin kullanımı (ksenotransplantasyon) aktif olarak araştırılmaktadır. 2024-2025 yıllarında yapılan ilk insan ksenotransplantasyonları umut verici ancak zorlu sonuçlar göstermiştir (Le Bas-Bernardet & Blancho, 2025; Montgomery et al., 2025).

NYU Langone Health araştırmacılarının 2025 çalışması, domuz böbrek ksenotransplantasyonunda rejeksiyon arkasındaki immün mekanizmaları haritalamış ve hem antikor hem de T hücre aktivitesini hedefleyen FDA onaylı immünmodölatör ilaçların

deneysel kombinasyonları kullanılarak rejeksiyon yanıtının baskılanabildiği gösterilmiştir (Montgomery et al., 2025).

CircRNA'lar, ksenotransplantasyonda da rol oynayabilir:

- Domuz ve insan böbrekleri arasındaki circRNA profil farklılıklarını anlamak, türler arası uyumsuzlukları aydınlatılabilir
- İmmün toleransı destekleyebilecek circRNA profillerinin tanımlanması, ksenorejeksiyon mekanizmalarının anlaşılmasına katkı sağlayabilir
- Ksenotransplantasyon sonrası idrar circRNA profilleri, erken rejeksiyon veya hasar işaretleri sağlayabilir

Ancak, ksenotransplantasyonla ilgili önemli etik sorular da bulunmaktadır: hayvan refahı, zoonotik hastalık riski ve kültürel/dini kabul gibi konular toplumsal tartışma gerektirmektedir.

### **8.5. Teknolojik Gelişmeler**

CircRNA araştırmaları, teknolojik yeniliklerden büyük ölçüde faydalanacaktır (Yu et al., 2021):

- Tek Hücre RNA Sekanslama: Böbrek dokusu içindeki farklı hücre tiplerinde circRNA ekspresyon paternlerini yüksek çözünürlükle haritalamak.
- Spatial Transcriptomics: CircRNA'ların doku içindeki uzamsal dağılımını görselleştirerek, lokal mikroçevre etkilerini anlamak.
- Nanopore Sekanslama: CircRNA'ların tam uzunlukta sekanslanması ve modifikasyonlarının (m6A, m5C gibi) karakterizasyonu.

- CRISPR Tabanlı Dzenleme: CircRNA'ların fonksiyonel rollerini in vivo olarak test etmek için hedefli müdahale araçları.

## 9. SONUÇ

Sirküler RNA'lar, böbrek nakli alanında çok yönlü ve önemli moleküller olarak ortaya çıkmıştır. Rejeksiyon için non-invaziv biyobelirteçler, iskemi-reperfüzyon hasarının ve kronik allogreft disfonksiyonunun dzenleyicileri ve potansiyel terapötik hedefler olarak, circRNA'lar transplant tıbbının geleceğini şekillendirme potansiyeline sahiptir.

Güncel literatür taraması, circRNA araştırmalarının hızla ilerlediğini göstermektedir. 2024–2025 yıllarında, ekzozomal RNA'ların (zellikle mRNA temelli panellerin) tanısal kullanımı, MSC kökenli ekzozomların terapötik potansiyeli ve sentetik circRNA teknolojilerindeki gelişmeler, alan için önemli kilometre taşları olarak öne çıkmıştır (El Fekih et al., 2025; Y. Li et al., 2025; Wasinska-Kalwa et al., 2025).

### **Klinik evirinin önündeki zorluklar:**

- Çok merkezli, geniş ölçekli validasyon çalışmalarına ihtiyaç
- CircRNA'ların moleküler mekanizmaları daha detaylı anlaşılmalı
- Terapötik kullanım için güvenlik ve etkinlik profillerinin, kademeli prelinik ve erken faz klinik çalışmalarla değerlendirilmesi gerekmektedir.
- Standardize edilmiş tespit ve analiz protokolleri geliştirilmeli
- Regülatör yollar ve klinik uygulama erveleri netleştirilmeli

Gelecekte, circRNA'ların, kişiselleştirilmiş transplant tıbbına katkı sağlayabilecek tamamlayıcı biyobelirteçler arasında yer alabileceği öngörülmektedir (Muhammad et al., 2025). Hastaların bireysel circRNA profillerinin, risk stratifikasyonu ve klinik takipte mevcut parametrelere destekleyici bilgi sağlayabileceği düşünülmektedir. Yapay zeka ve makine öğrenmesi algoritmaları, karmaşık circRNA verilerini entegre ederek klinik karar desteği sağlayacaktır.

Sonuç olarak, böbrek naklinde circRNA araştırmaları, hem temel bilim hem de klinik uygulama açısından heyecan verici bir alandır. Multidisipliner yaklaşımlar, teknolojik gelişmeler ve klinik-translasyonel çalışmaların entegrasyonu ile circRNA'lar, böbrek nakli sonuçlarını iyileştirmede önemli bir rol oynayacaktır. Bu moleküllerin tam potansiyelinin ortaya çıkarılması, transplant hastalarında greft fonksiyonunun izlenmesi ve uzun dönem sonuçların iyileştirilmesine yönelik yeni araştırma alanları açma potansiyeli taşımaktadır.

## **KAYNAKLAR**

- Berney, T., Bellini, M. I., Benning, L., Bestard, O., Masset, C., Moeckli, B., ... Schneeberger, S. (2025). 2024: A Year in Review. *Transplant International*. Frontiers Media SA. DOI: <https://doi.org/10.3389/ti.2024.14243>
- Cao, S., Huang, Y., Dai, Z., Liao, Y., Zhang, J., Wang, L., ... Liu, L. (2022). Circular RNA mmu\_circ\_0001295 from hypoxia pretreated adipose-derived mesenchymal stem cells (ADSCs) exosomes improves outcomes and inhibits sepsis-induced renal injury in a mouse model of sepsis. *Bioengineered*, 13(3), 6323–6331. DOI: <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2044720>
- Cao, Y., Shi, Y., Yang, Y., Wu, Z., Peng, N., Xiao, J., ... Fu, C. (2022). Urinary exosomes derived circRNAs as biomarkers for chronic renal fibrosis. *Annals of Medicine*, 54(1), 1966–1976. DOI: [10.1080/07853890.2022.2098374](https://doi.org/10.1080/07853890.2022.2098374)
- Codina, S., Manonelles, A., Tormo, M., Sola, A., & Cruzado, J. M. (2021). Chronic kidney allograft disease: new concepts and opportunities. *Frontiers in Medicine*, 8, 660334. DOI: [10.3389/fmed.2021.660334](https://doi.org/10.3389/fmed.2021.660334)
- El Fekih, R., Franzen, K., Hurley, J., Haynes, B. C., Merhej, T., Alghamdi, A., ... Choi, J. (2025). An exosomal mRNA urine test for detection and risk stratification of human kidney transplant rejection. *Kidney International Reports*, 10(4), 1131–1142. DOI: [10.1016/j.ekir.2025.01.036](https://doi.org/10.1016/j.ekir.2025.01.036)
- Ghods, F. J. (2019). Trends of non-coding RNAs research in acute rejection after kidney transplantation. *Non-Coding RNA Investigation*, 3. doi: [10.21037/ncri.2019.03.04](https://doi.org/10.21037/ncri.2019.03.04)

- Hu, L., Jin, T., Zhang, N., Ding, J., & Li, L. (2025). RNA-Based Therapies in Kidney Diseases. *Journal of Inflammation Research*, 3143–3160. DOI: 10.2147/JIR.S505252
- Kölling, M., Haddad, G., Wegmann, U., Kistler, A., Bosakova, A., Seeger, H., ... Wüthrich, R. P. (2019). Circular RNAs in urine of kidney transplant patients with acute T cell-mediated allograft rejection. *Clinical Chemistry*, 65(10), 1287–1294. DOI: 10.1373/clinchem.2019.305854
- Kölling, M., & Lorenzen, J. M. (2020). Circular RNAs as non-invasive urinary biomarker of kidney diseases. *Annals of Translational Medicine*, 8(5), 255. doi: 10.21037/atm.2020.01.115
- Lasorsa, F., Rutigliano, M., Milella, M., d'Amati, A., Crocetto, F., Pandolfo, S. D., ... Battaglia, M. (2024). Ischemia–reperfusion injury in kidney transplantation: mechanisms and potential therapeutic targets. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(8), 4332. DOI: 10.3390/ijms25084332
- Le Bas-Bernardet, S., & Blancho, G. (2025). Progress in porcine kidney transplantation to non-human primates. *Transplant International*, 38, 14003. DOI: 10.3389/ti.2025.14003
- Lei, Y., Liu, M., & Tao, X. (2026). Extracellular Vesicles: Orchestrators of Intrahepatic and Systemic Crosstalk in Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease. *Pharmaceutics*, 18(1), 116. DOI: 10.3390/pharmaceutics18010116
- Lentine, K. L., Smith, J. M., Lyden, G. R., Miller, J. M., Booker, S. E., Dolan, T. G., ... Israni, A. K. (2025). OPTN/SRTR 2023 annual data report: kidney. *American Journal of*

- Transplantation, 25(2), S22–S137.  
DOI: 10.1016/j.ajt.2025.01.020
- Li, G., Zhang, S., Zou, Y., Ai, H., Zheng, X., Qian, K., ... Fu, W. (2024). The therapeutic potential of exosomes in immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, 15, 1424081. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1424081>
- Li, Y., Waheed, Y. A., & Sun, D. (2025). Exosomes and renal fibrosis: Diagnostic value, therapeutic potential and challenges. *International Journal of Nanomedicine*, 11267–11294. DOI: 10.2147/IJN.S529311
- Martin, F., Carmona, M., Mahillo, B., Alvarez, M., Luengo, A., Chatzixiros, E., ... Tullius, S. G. (2026). Organ Donation and Transplantation Worldwide: The Global Observatory on Donation and Transplantation 2024 Report. *Transplantation*, 110(3), e655–e669. DOI: 10.1097/TP.0000000000005657
- Montgomery, R. A., Stern, J. M., Fathi, F., Suek, N., Kim, J. I., Khalil, K., ... Skolnik, E. Y. (2025). Physiology and immunology of pig-to-human decedent kidney xenotransplant. *Nature*, 1–3. DOI: 10.1038/s41586-025-09847-6
- Moore IV, J. B., Merchant, M. L., & Uchida, S. (2019). Circular RNAs as diagnostic tool for renal transplant patients with acute rejection. *Annals of Translational Medicine*, 7(Suppl 8), S302. doi: 10.21037/atm.2019.11.08
- Muhammad, A., Huang, H., Tang, R., Zhang, Y., Xiao, Y., Yuan, Q., & Xiao, X. (2025). Bioengineered T Cell Therapies for Precision Immunotherapy in Renal Transplantation, Autoimmune Relapse, and Sensitization. *Clinical Kidney Journal*. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfaf248>

- Park, J., Lin, H.-Y., Assaker, J. P., Jeong, S., Huang, C.-H., Kurdi, A., ... Eskandari, S. (2017). Integrated kidney exosome analysis for the detection of kidney transplant rejection. *ACS Nano*, 11(11), 11041–11046. DOI: 10.1021/acsnano.7b05083
- Salvadori, M., Rosso, G., & Bertoni, E. (2015). Update on ischemia-reperfusion injury in kidney transplantation: Pathogenesis and treatment. *World Journal of Transplantation*, 5(2), 52. DOI: 10.5500/wjt.v5.i2.52
- van Zonneveld, A. J., Zhao, Q., Rotmans, J. I., & Bijkerk, R. (2023). Circulating non-coding RNAs in chronic kidney disease and its complications. *Nature Reviews Nephrology*, 19(9), 573–586. DOI: 10.1038/s41581-023-00725-w
- Wasinska-Kalwa, M., Mamot, A., Czubak, K., Frankowska, K., Rajkiewicz, A. A., Spiewla, T., ... Siekan, K. (2025). Chemical circularization of in vitro transcribed RNA for exploring circular mRNA design. *Nature Communications*, 16(1), 6455. DOI: 10.1038/s41467-025-61775-1
- Wei, L., Liu, L., Bai, M., Ning, X., & Sun, S. (2023). CircRNAs: versatile players and new targets in organ fibrosis. *Cell Communication and Signaling*, 21(1), 90. DOI: 10.1186/s12964-023-01051-1
- Yang, B., Wang, J., Qiao, J., Zhang, Q., Liu, Q., Tan, Y., ... Li, Z. (2024). Circ DENND4C inhibits pyroptosis and alleviates ischemia-reperfusion acute kidney injury by exosomes secreted from human urine-derived stem cells. *Chemico-Biological Interactions*, 391, 110922. DOI: 10.1016/j.cbi.2024.110922

- Yu, J., Xie, D., Huang, N., & Zhou, Q. (2021). Circular RNAs as novel diagnostic biomarkers and therapeutic targets in kidney disease. *Frontiers in Medicine*, 8, 714958. DOI: 10.3389/fmed.2021.714958
- Zhang, F., Jiang, J., Qian, H., Yan, Y., & Xu, W. (2023). Exosomal circRNA: emerging insights into cancer progression and clinical application potential. *Journal of Hematology & Oncology*, 16(1), 67. DOI: 10.1186/s13045-023-01452-2
- Zhao, H., Alam, A., Soo, A. P., George, A. J. T., & Ma, D. (2018). Ischemia-reperfusion injury reduces long term renal graft survival: mechanism and beyond. *EBioMedicine*, 28, 31–42. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.01.025
- Zheng, Y., Wang, H., Li, X., Xie, J., Fan, J., & Ren, S. (2024). Extracellular vesicles in chronic kidney disease: diagnostic and therapeutic roles. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1371874. DOI: 10.3389/fphar.2024.1371874

# **ERKEK İNFERTİLİTESİNDE GENETİK MİMARİ: Y KROMOZOM MİKRODELESYONLARI VE AZOOSPERMİNİN MOLEKÜLER PATOGENEZİ**

**Muhammed Ali NALBANT<sup>1</sup>**

## **1. GİRİŞ**

### **1.1. Erkek İnfertilitesinde Genetik Paradigmanın Dönüşümü**

İnfertilite, üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık %15'ini etkileyen küresel bir halk sağlığı sorunudur. Güncel epidemiyolojik veriler, infertilite olgularının en az yarısında erkek faktörünün belirleyici olduğunu ortaya koymaktadır (Colaco & Modi, 2018). Erkek infertilitesinin en ağır klinik formu olan azoospermi, ejakülatta spermatozoon bulunmaması ile karakterizedir ve genel erkek popülasyonunun yaklaşık %1'ini etkiler.

Azoospermi obstrüktif ve non-obstrüktif olmak üzere iki ana kategoriye ayrılır. Non-obstrüktif azoospermi (NOA), testiküler düzeyde spermatogenezin bozulması sonucu ortaya çıkar ve genetik etiyoloji ile güçlü biçimde ilişkilidir. Günümüzde NOA olgularının %15–20'sinde genetik nedenler saptanabilmektedir. Bu genetik nedenler arasında en sık görülenler 47,XXY karyotipi (Klinefelter sendromu) ve Y kromozomunun uzun kolundaki mik rodelesyonlardır.

---

<sup>1</sup> Dr. Öğr. Üyesi, Bandırma Onyed i Eylül Üniversitesi, Temel Tıp Bilimleri, Tıbbi Biyoloji A.D., ORCID: 0000-0002-4713-1492.

Y kromozomu mikrodelsyonlarının spermatogenez üzerindeki etkileri ilk kez Tiepolo ve Zuffardi (1976) tarafından tanımlanmış, daha sonra moleküler tekniklerin gelişmesiyle birlikte Yq11 bölgesinde yer alan Azoospermi Faktörü (AZF) lokuslarının yapısı ayrıntılı olarak ortaya konmuştur. Bu bölümde, Y kromozomunun evrimsel yapısından başlayarak AZF bölgelerinin moleküler organizasyonu, delsyon mekanizmaları, histopatolojik karşılıkları ve klinik yönetim stratejileri bütüncül bir çerçevede ele alınmaktadır.

## **2. Y KROMOZOMUNUN EVRİMSEL VE YAPISAL BİYOLOJİSİ**

Y kromozomu, memeli genom evriminin en dikkat çekici örneklerinden birini oluşturur. Filogenetik analizler, insan Y kromozomunun yaklaşık 300 milyon yıl önce bir otozom çiftinden türediğini ve bu süreçte cinsiyet belirlenmesi işlevini üstlenen genetik bir farklılaşma yaşadığını göstermektedir. Başlangıçta homolog bir kromozom çifti olan proto-X ve proto-Y, cinsiyet belirleyici bir genin ortaya çıkışı ve bunun etrafında gelişen seçilim baskıları sonucunda işlevsel olarak ayrılmıştır. Bu ayrışma, zamanla Y kromozomunun X kromozomu ile rekombinasyon kapasitesini büyük ölçüde kaybetmesine yol açmıştır. Rekombinasyonun baskılanması, erkek fenotipine özgü gen kombinasyonlarının korunmasını sağlarken, aynı zamanda Y kromozomunun genetik erozyona açık hale gelmesine neden olmuştur.

Evrimsel süreçte Y kromozomu, başlangıçtaki gen içeriğinin önemli bir bölümünü kaybetmiş; buna karşın erkek gonadal gelişimi ve spermatogenez için kritik öneme sahip genleri seçilim baskısı altında muhafaza etmiştir. Bu durum, Y kromozomunun niceliksel olarak küçülmesine rağmen işlevsel açıdan son derece özelleşmiş bir yapı kazanmasıyla

sonuçlanmıştır. Günümüzde insan Y kromozomu yaklaşık 57 milyon baz çifti uzunluğunda olup, genomun en kk kromozomlarından biridir; ancak içerdiği tekrar dizileri, palindromik yapılar ve çoklu gen kopyaları nedeniyle yapısal açıdan oldukça karmaşık bir organizasyona sahiptir.

Rekombinasyon kaybının en önemli sonuçlarından biri, Muller's ratchet olarak tanımlanan ve zararlı mutasyonların geri dönüşsüz birikimine yol açabilen evrimsel mekanizmadır. Otozomal kromozomlarda homolog rekombinasyon aracılığıyla elimine edilebilen mutasyonlar, Y kromozomunda bu düzeltici mekanizmadan büyük lde yoksundur. Bu nedenle Y kromozomu, tarihsel süreç içinde gen kaybı ve yeniden düzenlenmeler açısından dinamik bir evrim geçirmiştir. Bununla birlikte, özellikle spermatogeneze özgü gen ailelerinin çoklu kopyalar halinde bulunması, bu evrimsel dezavantajı kısmen telafi eden bir adaptif strateji olarak değerlendirilmektedir.

Y kromozomunun yapısal organizasyonu incelendiğinde, dizisel tekrarların ve geniş palindromik segmentlerin baskın olduğu görülmektedir. Bu palindromlar, iki kolu arasında yüksek derecede dizisel benzerlik bulunan ve ters yönlü organize edilmiş segmentlerdir. Bu yapı, klasik homolog rekombinasyon yerine “gen dönüşümü” (gene conversion) adı verilen intrakromozomal düzeltme mekanizmasının çalışmasına olanak tanır. Gen dönüşümü, bir palindrom kolundaki mutasyonun karşı koldaki sağlam diziyi şablon olarak kullanarak düzeltilmesini mümkün kılar. Böylece Y kromozomu, rekombinasyon eksikliğine rağmen belirli lde genetik bütünlüğünü koruyabilmektedir.

Ancak bu yapısal özellik aynı zamanda kırılğanlık da yaratmaktadır. Yüksek derecede benzer tekrar dizileri, mayoz sırasında yanlış hizalanmaya ve alel olmayan homolog rekombinasyona zemin hazırlar. Bu durum, geniş segmentlerin delesyonu, duplikasyonu veya inversiyonu ile sonuçlanabilir.

Özellikle Y kromozomunun uzun kolunda (Yq11) yer alan ve spermatogenezle ilişkili bölgelerde görülen mikrodelesyonlar, bu yapısal organizasyonun doğrudan bir sonucudur. Dolayısıyla Y kromozomunun mimarisi, hem genetik koruma hem de genetik kırılabilirlik özelliklerini aynı anda barındıran çift yönlü bir evrimsel strateji olarak değerlendirilebilir.

Sonuç olarak Y kromozomu, gen kaybı, rekombinasyon baskılanması ve tekrar dizilerinin birikimi gibi evrimsel süreçlerin şekillendirdiği özgün bir kromozomal model sunmaktadır. Küçük boyutuna rağmen karmaşık dizisel organizasyonu, spermatogenez için özelleşmiş gen aileleri ve intrakromozomal onarım mekanizmaları ile Y kromozomu, erkek infertilitesinin genetik temelini anlamada merkezi bir konuma sahiptir. Bu yapısal özelliklerin ayrıntılı analizi, özellikle mikrodelesyonların moleküler kökeninin kavranması açısından kritik öneme sahiptir.

### **2.1. MSY (Male-Specific Region of the Y) Organizasyonu**

Y kromozomunun yaklaşık %95'ini oluşturan ve X kromozomu ile rekombinasyona girmeyen bölge MSY olarak adlandırılır. Skaletsky ve arkadaşları (2003), MSY'nin üç ana dizisel sınıfa ayrıldığını göstermiştir:

1. **X-Degenerate Bölgeler** Evrimsel olarak X kromozomundan türemiş homolog genleri içerir.
2. **X-Transposed Bölgeler** Daha yakın evrimsel dönemde X'ten Y'ye aktarılmış dizilerdir.
3. **Ampliconic Bölgeler**

Y kromozomunun en dikkat çekici ve klinik açıdan en önemli bölgesidir. Bu alanlar devasa palindromik yapılar (P1-P8) içerir. Palindromlar, kendi içinde ters tamamlayıcı dizilere sahip

segmentlerdir ve “gene conversion” mekanizması ile genetik bütünlüğü korumaya çalışırlar (Kuroda-Kawaguchi et al., 2001).

Ancak bu yapısal özellik aynı zamanda delesyonlara yatkınlık oluşturur.

### **3. AZOOSPERMİ FAKTÖRÜ (AZF) BÖLGELERİ**

Vogt ve arkadaşları (1996), Yq11 bölgesini üç ana fonksiyonel lokusa ayırmıştır: AZFa, AZFb ve AZFc. Her biri spermatogenezin farklı aşamalarında kritik rol oynar.

#### **3.1. AZFa Lokusu: Erken Germ Hücre Gelişiminin Moleküler Temeli**

AZFa bölgesi, Y kromozomunun uzun kolunda (Yq11) yer alan ve yaklaşık 792 kb uzunluğa sahip olan en proksimal AZF lokusudur. Bu bölge, spermatogenezin en erken evresi olan spermatogonial kök hücrelerin sürdürülmesi ve proliferasyonu açısından kritik öneme sahiptir. AZFa lokusunun fonksiyonel bütünlüğü, germ hücre hattının embriyonik dönemde doğru biçimde başlatılması ve puberte sonrasında devamlılığının sağlanması için gereklidir.

Bu bölgede yer alan iki temel gen olan **USP9Y** ve **DDX3Y**, hücresel düzeyde farklı fakat birbirini tamamlayan mekanizmalar üzerinden işlev görür. USP9Y, ubiquitin-proteazom sisteminin bir bileşeni olarak görev yapan bir deubikuitinazdır. Hücre içinde proteinlerin stabilitesi ve yıkımı arasındaki denge, germ hücre proliferasyonu ve farklılaşması açısından belirleyicidir. USP9Y'nin kaybı, özellikle spermatogonial hücrelerde protein homeostazının bozulmasına ve hücresel stres yanıtlarının aktive olmasına yol açabilmektedir.

DDX3Y ise DEAD-box ailesine ait bir RNA helikazdır ve RNA metabolizmasının çeşitli aşamalarında rol oynar. Translasyon başlatılması, RNA taşıması ve hücre döngüsü

kontrolü gibi süreçlerde görev alan bu protein, germ hücrelerinin mitotik aktivitesinin düzenlenmesinde kritik bir faktördür (Foresta, Moro, & Ferlin, 2001). DDX3Y'nin fonksiyon kaybı, spermatogonial hücrelerin proliferatif kapasitesini azaltarak testiküler germ hücre havuzunun tükenmesine neden olabilir.

AZFa bölgesinin tam delesyonu klinik olarak en ağır fenotiplerden biriyle ilişkilidir: **Sertoli Cell Only Syndrome (SCOS)**. Bu tabloda seminifer tübüller tamamen germ hücrelerinden yoksundur ve yalnızca destekleyici Sertoli hücreleri gözlenir. Histolojik olarak tübül lümeninin boş olduğu, germinal epitelin kaybolduğu ve spermatogenez basamaklarının hiçbirinin izlenmediği bir yapı söz konusudur. Bu nedenle tam AZFa delesyonu olan hastalarda cerrahi sperm elde etme girişimlerinin (TESE) başarı olasılığı son derece düşüktür.

### **3.2. AZFb Lokusu: Mayotik İlerleme ve Gen Ekspresyon Kontrolü**

AZFb bölgesi yaklaşık 6.2 Mb uzunluğunda olup spermatogenezin mayotik fazının düzenlenmesinde merkezi rol oynar. Bu lokus, özellikle birinci mayotik bölünme sırasında kromozomal eşleşme, rekombinasyon ve gen ekspresyon düzenlenmesi açısından kritik genleri barındırır.

AZFb bölgesinde yer alan en önemli gen ailesi **RBM Y (RNA Binding Motif Protein, Y-linked)** genleridir. RBMY proteinleri, testise özgü RNA bağlayıcı proteinlerdir ve pre-mRNA'nın alternatif kesilip birleştirilmesi (splicing) sürecinde görev alırlar. Spermatogenez sırasında birçok genin testise özgü izoformları üretilir ve bu süreç yüksek hassasiyet gerektirir. RBMY kaybı, bu hassas düzenlemenin bozulmasına ve mayotik ilerlemenin durmasına yol açar.

AZFb delesyonları klinik olarak genellikle **maturation arrest (olgunlaşma duraklaması)** ile ilişkilidir. Histopatolojik incelemede germ hücreleri çoğunlukla spermatozoid evresinde

takılı kalmıştır. Özellikle mayozun profaz I evresinde hücresel ilerleme durur ve daha ileri aşamalara geçiş gerçekleşmez. Bu durum, genetik materyalin doğru eşleşememesi veya mayotik kontrol noktalarının aktive olmasıyla açıklanmaktadır. Sonuçta germ hücresleri apoptoza yönlendirilir ve olgun spermatozoon üretimi gerçekleşmez.

Tam AZFb delesyonu olan hastalarda sperm üretimi genellikle tamamen kaybolmuştur ve cerrahi girişimlerle sperm elde etme olasılığı oldukça düşüktür.

### **3.3. AZFc Lokusu: Spermatisit Olgunlaşması ve Gen Kopya Dinamikleri**

AZFc bölgesi yaklaşık 3.5 Mb uzunluğunda olup Y kromozomunun en kompleks ve en sık delesyona uğrayan lokusudur. Bu bölge, geniş palindromik yapılar ve yüksek derecede tekrar dizileri içerir; bu nedenle yapısal yeniden düzenlenmelere yatkındır. AZFc'nin en dikkat çekici özelliği, çoklu gen kopyaları barındırmasıdır.

Bu lokusta yer alan **DAZ (Deleted in Azoospermia)** gen ailesi, dört kopya halinde bulunur ve spermatogenezin post-meiotik aşamalarında kritik rol oynar. DAZ proteinleri, RNA bağlayıcı özellikleri sayesinde translasyonel kontrol mekanizmalarını düzenler. Özellikle spermatisitlerin farklılaşması sırasında belirli mRNA'ların stabilitesi ve zamanında translasyonu, hücresel morfolojik dönüşüm için gereklidir (Kuroda-Kawaguchi et al., 2001).

AZFc delesyonları fenotipik olarak heterojen bir tabloya yol açar. Tam delesyon durumunda azoospermi görülebilirken, parsiyel delesyonlarda ağır oligozoospermi veya fokal spermatogenez izlenebilir. Histolojik olarak hipospermatogenez siktir; bazı seminifer tübüllerde sperm üretimi devam ederken diğerlerinde üretim ciddi şekilde azalmıştır.

AZFc bölgesinin yapısal karmaşıklığı, NAHR mekanizması yoluyla tekrarlayan delesyonlara zemin hazırlar. Ancak bu bölgedeki genlerin çoklu kopyalar halinde bulunması, kısmi delesyonlarda fenotipin daha hafif seyretmesine katkıda bulunabilir. Bu durum, AZFc delesyonu olan bazı hastalarda TESE ile sperm elde edilebilmesini açıklayan önemli bir biyolojik temeldir.

#### **4. MİKRODELESYONLARIN MOLEKÜLER MEKANİZMASI: NAHR**

Y kromozomundaki mikrodelesyonların temel mekanizması Alel Olmayan Homolog Rekombinasyon (NAHR)'dur. Mayoz sırasında palindromik diziler yanlış eşleştiğinde büyük segmentlerin kaybı gerçekteşir (Repping et al., 2003).

Bu mekanizma, delesyonların rastlantısal değil yapısal bir kırılmalığın sonucu olduğunu göstermektedir.

#### **5. HÜCRESEL PATOFİZYOLOJİ**

Gen kaybı yalnızca protein eksikliği anlamına gelmez; aynı zamanda hücresel sinyal ağlarının çöküşüne yol açar.

- p53 aktivasyonu ve germ hücre apoptozu
- Sertoli hücre fonksiyon bozukluğu
- İnhibin-B azalması
- FSH yükselmesi (Krausz et al., 2014)

Testiküler mikroçevre bütünlüğünün bozulması spermatogenezin sürdürülebilirliğini ortadan kaldırır.

## 6. HİSTOPATOLOJİK KORELASYON: MOLEKÜLER DEFEKTLERİN DOKU DÜZEYİNDEKİ YANSIMALARI

Y kromozomu mikrodelesyonları, yalnızca moleküler düzeyde gen kaybı ile sınırlı kalmamakta; testiküler doku organizasyonunda belirgin morfolojik değişikliklere yol açmaktadır. Bu nedenle histopatolojik inceleme, genetik tanının fenotipik karşılığını ortaya koyan kritik bir basamaktır. AZF bölgelerindeki delesyonların her biri, spermatogenezin farklı biyolojik evrelerini etkilediğinden, testiküler biyopsi örneklerinde gözlenen bulgular da özgül paternler sergiler. Bu bağlamda en sık karşılaşılan üç temel histopatolojik tablo Sertoli Cell Only Syndrome (SCOS), maturasyon arrest ve hipospermatogenezdir.

### 6.1. Sertoli Cell Only Syndrome (SCOS)

Sertoli Cell Only Syndrome, genellikle **tam AZFa delesyonu** ile ilişkilendirilen en ağır histolojik fenotiptir. Bu tabloda seminifer tübüllerin germinal epiteli tamamen kaybolmuştur ve tübül lümeni yalnızca Sertoli hücreleri ile döşelidir. Germ hücre hattına ait spermatogonium, spermatozoid ya da spermatid gibi herhangi bir hücresel evre izlenmez.

Mikroskopik incelemede tübüllerin çapının sıklıkla azaldığı, bazal membranın kalınlaştığı ve interstisyel alanda Leydig hücre hiperplazisinin eşlik edebileceği gözlenir. Germ hücrelerinin tamamen yokluğu, spermatogonial kök hücre havuzunun embriyonik ya da erken postnatal dönemde kaybına işaret eder. Bu durum, AZFa bölgesinde yer alan ve erken germ hücre sürdürülebilirliğini sağlayan genlerin fonksiyon kaybı ile uyumludur.

Klinik açıdan SCOS, non-obstrüktif azosperminin en kötü prognozlu formudur. Fokal spermatogenez alanları bulunma

olasılıđı son derece dűşűktűr; bu nedenle cerrahi sperm elde etme giriřimlerinin bařarı oranı minimaldir.

## **6.2. Maturation Arrest (Olgunlaşma Duraklaması)**

Maturation arrest, sıklıkla **AZFb delesyonları** ile ilişkilidir ve spermatogenezin belirli bir evrede duraklaması ile karakterizedir. Histopatolojik olarak germ hűcre hattı tamamen kaybolmamıştır; ancak hűcreler mayotik ilerlemenin belirli bir basamağında takılı kalmıştır.

En sık gűzlenen patern, primer spermatosit dűzeyinde duraklamadır. Bu durumda seminifer tűbűllerde spermatogoniumlar ve primer spermatositler izlenirken, sekonder spermatosit, spermatid ve olgun spermatozoonlar bulunmaz. Bu tablo, mayozun ۆzellikle profaz I evresinde aktive olan kontrol noktalarının hűcresel ilerlemeyi durdurmasıyla ađıklanır. Genetik materyalin eřleřme ve rekombinasyon sűreçlerindeki bozukluklar, hűcresel stres yanıtını tetikleyerek apoptoza yol ađar.

Maturation arrestin erken ve geđ tipleri tanımlanmıřtır. Erken tipte hűcresel blokaj primer spermatosit dűzeyinde gerçekteřirken, geđ tipte spermatid ařamasına yakın bir evrede duraklama gűzlenebilir. AZFb bűlgesinde yer alan genlerin RNA iřlenmesi ve mayotik regűlasyondaki rolleri gűz ۆnűne alındıđında, bu histolojik patern molekűler defektle uyum gűstermektedir.

Klinik olarak tam AZFb delesyonlarında sperm ۆretimi genellikle bulunmaz ve TESE bařarısı son derece dűşűktűr.

## **6.3. Hipospermatogenez**

Hipospermatogenez, ođunlukla **AZFc delesyonları** ile iliřkili daha heterojen bir histolojik fenotiptir. Bu tabloda spermatogenezin tűm evreleri izlenebilir; ancak hűcre sayısı belirgin biçimde azalmıřtır. Seminifer tűbűllerin bir kısmında

sperm üretimi devam ederken, diğer tübüllerde ciddi derecede azalma veya fonksiyon kaybı gözlemlenebilir.

Histolojik incelemede germinal epitel kalınlığının azaldığı, spermatid ve spermatozoon sayısının belirgin şekilde düştüğü görülür. Ancak SCOS ya da tam maturasyon arrestten farklı olarak germ hücre hattı tamamen kaybolmamıştır. Bu durum, AZFc bölgesindeki genlerin çoklu kopyalar halinde bulunması ve parsiyel fonksiyon korunumu ile açıklanabilir.

Hipospermatogenez olgularında **fokal spermatogenez alanları** mevcut olabilir. Bu nedenle AZFc delesyonu olan hastalarda cerrahi sperm elde etme girişimlerinin başarı şansı diğer delesyon tiplerine kıyasla daha yüksektir. Histopatolojik heterojenite, klinik prognozun da değişken olmasına yol açmaktadır.

## **7. TANISAL YAKLAşIM: MOLEKÜLER STANDARTLAR VE GENİşLEYEN TEKNOLOJİK ÇERÇEVE**

Y kromozomu mikrodelesyonlarının tanısında amaç yalnızca delesyon varlığını göstermek değil, aynı zamanda delesyonun lokalizasyonunu, kapsamını ve klinik prognoz üzerindeki olası etkilerini belirlemektir. Bu nedenle tanisal yaklaşım, uluslararası standartlara dayanan, yüksek özgüllük ve duyarlılık sağlayan moleküler yöntemleri içermelidir. Günümüzde Avrupa Androloji Akademisi (EAA) ve European Molecular Genetics Quality Network (EMQN) tarafından belirlenen kılavuzlar, klinik uygulamada referans niteliği taşımaktadır.

### **7.1. Multiplex PCR ve STS Analizi**

Y kromozomu mikrodelesyon taramasında uzun yıllardır altın standart yöntem olarak **multiplex PCR temelli STS**

**(Sequence Tagged Site) analizi** kullanılmaktadır. Bu yöntemde, Y kromozomunun belirli bölgelerine özgü kısa DNA dizileri (STS markerları) amplifiye edilerek hedef bölgenin varlığı ya da yokluğu değerlendirilir. Bir STS bandının amplifiye edilememesi, ilgili lokusta delesyon bulunduğuna işaret eder.

EAA/EMQN kılavuzları doğrultusunda önerilen zorunlu minimum marker seti řu şekildedir (Krausz et al., 2014):

- **AZFa bölgesi:** sY84, sY86
- **AZFc bölgesi:** sY127, sY134
- **AZFc bölgesi:** sY254, sY255

Bu markerlar, üç temel AZF lokusunun güvenilir biçimde taranmasını sağlar. Tanısal doğruluk açısından her analizde iç kontrol markerlarının kullanılması zorunludur. Ayrıca testin en az iki bağımsız PCR reaksiyonu ile doğrulanması önerilmektedir.

Multiplex PCR'nin avantajları arasında düşük maliyet, teknik uygulanabilirlik ve klinik pratiğe kolay entegrasyon sayılabilir. Bununla birlikte, bu yöntem yalnızca büyük delesyonları saptayabilmekte; parsiyel delesyonlar, kompleks yeniden düzenlenmeler veya kopya sayısı varyasyonları konusunda sınırlı bilgi sunmaktadır. Özellikle AZFc bölgesindeki gr/gr gibi subdelesyonların değerlendirilmesi için daha ileri teknikler gerekebilmektedir.

## **7.2. Yeni Nesil Dizileme (NGS) ve Genişletilmiş Genomik Analiz**

Son yıllarda **Yeni Nesil Dizileme (Next Generation Sequencing, NGS)** teknolojilerinin gelişmesi, erkek infertilitesinin genetik tanısında yeni bir paradigma oluşturmuştur. NGS, yalnızca geniş segmental delesyonları değil, aynı zamanda:

- Kopya sayısı varyasyonlarını (CNV),
  - Tek nükleotid varyantlarını (SNV),
  - Küçük insersiyon ve delesyonları,
  - Kompleks yapısal yeniden düzenlenmeleri
- yüksek çözünürlükte saptayabilmektedir.

Özellikle hedefe yönelik panel dizileme ya da tüm ekzom dizileme (WES), “idiyopatik” olarak sınıflandırılan birçok non-obstrüktif azospermi vakasında alta yatan genetik nedenlerin aydınlatılmasına katkı sağlamaktadır. Ayrıca NGS, Y kromozomu dışındaki otozomal ve X’e bağılı infertilite genlerinin de eşzamanlı analizine olanak tanır.

Bununla birlikte, NGS’nin klinik uygulamaya entegrasyonu bazı sınırlılıklar içermektedir: yüksek maliyet, biyoinformatik analiz gereksinimi ve varyantların klinik anlamlandırılmasındaki belirsizlikler. Bu nedenle güncel yaklaşım, STS tabanlı taramanın temel yöntem olarak sürdürülmesi ve şüpheli ya da açıklanamayan vakalarda NGS’nin tamamlayıcı araç olarak kullanılması yönündedir.

## **8. KLİNİK YÖNETİM VE TESE BAŞARISI**

Y kromozomu mikrolelesyonlarının klinik önemi yalnızca tanısal düzeyde değil, aynı zamanda tedavi stratejisinin belirlenmesinde de ortaya çıkar. Özellikle cerrahi sperm elde etme girişimleri (Testicular Sperm Extraction – TESE) açısından delesyon tipi belirleyici prognostik bir faktördür.

• **Tam AZFa ve AZFb delesyonları:** Bu bölgelerin bütüncül kaybı, genellikle spermatogenezin tamamen yokluğu ile ilişkilidir. Histolojik olarak SCOS veya tam maturasyon arrest tablosu gözlenir. Bu hastalarda TESE ile sperm elde etme

olasılıđı son derece dūřüktür ve çođu merkezde cerrahi girişim önerilmemektedir.

• **AZFc delesyonu:** AZFc kayıplarında fenotip daha heterojendir. Fokal spermatogenez alanları bulunabilir. Çalışmalar, AZFc delesyonu olan hastaların yaklaşık %50–70’inde TESE ile sperm elde edilebildiğini göstermektedir (Colaco & Modi, 2018). Bu durum, AZFc bölgesindeki genlerin çoklu kopyalar halinde bulunması ve parsiyel fonksiyon korunumu ile açıklanmaktadır.

Dolayısıyla moleküler tanı, yalnızca infertilitenin nedenini açıklamakla kalmaz; aynı zamanda cerrahi karar sürecine doğrudan yön verir ve gereksiz invaziv girişimlerin önüne geçilmesini sağlar.

## **9. GENETİK DANIŞMANLIK VE GELECEK PERSPEKTİFLER**

Y kromozomu mikrolelesyonları, otozomal anomalilerden farklı olarak erkek soy hattı boyunca doğrudan aktarıma potansiyeline sahiptir. İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) ile elde edilen gebeliklerde, babada bulunan Y kromozomu delesyonunun erkek çocuklara aynen aktarılacağı bilinmektedir (Tüttelmann et al., 2007). Bu nedenle Y mikrolelesyonu saptanan tüm hastalara kapsamlı genetik danışmanlık verilmesi zorunludur.

Genetik danışmanlık sürecinde řu başlıklar ele alınmalıdır:

- Delesyonun tipi ve kapsamı
- TESE başarı olasılığı
- Erkek çocukta infertilite riskinin yüksek olacağı
- Uzun dönem üreme sağlığı izlem gereksinimi

Gelecekte gen düzenleme teknolojileri (rneğin CRISPR/Cas sistemleri) teorik olarak spermatogonial kök hücre düzeyinde genetik düzeltme olanağı sunabilir. Ancak Y kromozomunun yapısal karmaşıklığı, çoklu gen kopyaları ve off-target mutasyon riskleri, bu tür müdahalelerin klinik uygulamaya geçmesini sınırlamaktadır. Ayrıca germ hattına yönelik genetik müdahaleler önemli etik ve biyogüvenlik tartışmalarını beraberinde getirmektedir.

Sonuç olarak Y kromozomu mikrolelesyonlarının tanısal ve klinik yönetimi, moleküler genetik, androloji ve üreme tıbbı disiplinlerinin kesişiminde yer alan çok boyutlu bir alan oluşturmaktadır. Tanısal teknolojilerin gelişimi, yalnızca infertilite etiyolojisinin daha doğru belirlenmesini değil, aynı zamanda bireyselleştirilmiş tedavi ve bilinçli üreme planlamasını mümkün kılmaktadır.

## **KAYNAKÇA**

- Colaco, S., & Modi, D. (2018). Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16(1), 14–28.
- Foresta, C., Moro, E., & Ferlin, A. (2001). Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocrine Reviews*, 22(2), 226–239.
- Krausz, C., Hoefsloot, L., Simoni, M., & Tüttelmann, F. (2014). EAA/EMQN best practice guidelines. *Andrology*, 2(1), 5–19.
- Kuroda-Kawaguchi, T., et al. (2001). The AZFc region of the Y chromosome. *Nature Genetics*, 29(3), 279–286.
- Repping, S., et al. (2003). Polymorphism for a 1.6-Mb deletion of the human Y chromosome. *Nature Genetics*, 35(3), 247–251.
- Skaletsky, H., et al. (2003). The male-specific region of the human Y chromosome. *Nature*, 423(6942), 825–837.
- Stouffs, K., et al. (2011). gr/gr deletions and male infertility. *Human Reproduction Update*, 17(2), 197–209.
- Tiepolo, L., & Zuffardi, O. (1976). Localization of factors controlling spermatogenesis. *Human Genetics*, 34(2), 119–124.
- Tüttelmann, F., Rajpert-De Meyts, E., Nieschlag, E., & Simoni, M. (2007). Gene polymorphisms and male infertility--a meta-analysis and literature review. *Reproductive biomedicine online*, 15(6), 643–658.
- Vogt, P. H., Edelmann, A., Kirsch, S., Henegariu, O., Hirschmann, P., Kiesewetter, F., Köhn, F. M., Schill, W. B., Farah, S., Ramos, C., Hartmann, M., Hartschuh, W., Meschede, D., Behre, H. M., Castel, A., Nieschlag, E.,

Weidner, W., Gröne, H. J., Jung, A., Engel, W., ... Haidl, G. (1996). Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Human molecular genetics*, 5(7), 933–943.

**INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF  
DABRAFENIB AND METFORMIN  
COMBINATION ON THE WNT SIGNALING  
PATHWAY IN THYROID CANCER CELLS<sup>1</sup>**

**Hatice OZISIK<sup>2</sup>**

**Buket OZEL<sup>3</sup>**

**Sezgi KIPCAK<sup>4</sup>**

**Ash SUNER<sup>5</sup>**

**Nur Selvi GUNEL<sup>6</sup>**

**Cigir Biray AVCI<sup>7</sup>**

**Banu Sarer YUREKLI<sup>8</sup>**

**Nilufer OZDEMIR<sup>9</sup>**

**Mehmet ERDOGAN<sup>10</sup>**

---

<sup>1</sup> This book chapter was prepared within the scope of a research project supported by the Ege University Scientific Research Projects Coordination Unit (BAP), Project No: TGA-2021-22705).

<sup>2</sup> Assoc. Prof. Ege University, Department of Endocrinology and Metabolism, İzmir, Turkey, ORCID: 0000-0003-4336-814X

<sup>3</sup> PhD. Ege University, Department of Medical Biology, İzmir, Turkey, ORCID: 0000-0003-2659-4129

<sup>4</sup> PhD. Ege University, Department of Medical Biology, İzmir, Turkey, ORCID: 0000-0003-0615-3844

<sup>5</sup> Assoc. Prof. Department of Biostatistics and Medical Informatics, İzmir, Turkey, ORCID: 0000-0002-6872-9901

<sup>6</sup> Assoc. Prof. Department of Biostatistics and Medical Informatics, İzmir, Turkey, ORCID: 0000-0001-7486-8986

<sup>7</sup> Prof. Dr. Ege University, Department of Medical Biology, İzmir, Turkey, ORCID: 0000-0001-8251-4520

<sup>8</sup> Assoc. Prof. Ege University, Department of Endocrinology and Metabolism, İzmir, Turkey, ORCID: 0000-0003-1809-2655

<sup>9</sup> Assoc. Prof. Celal Bayar University, Department of Endocrinology and Metabolism, Manisa, Turkey, ORCID: 000-0002-0719-988X

<sup>10</sup> Prof. Dr. Prof. Ege University, Department of Endocrinology and Metabolism, İzmir, Turkey, mehmet.erdogan@ege.edu.tr, ORCID:0000-0002-0300-3923

## **1. INTRODUCTION**

Anaplastic thyroid carcinoma (ATC) is recognized as the most aggressive form of thyroid cancer, characterized by rapid progression and poor prognosis. Despite accounting for only about 1% of all thyroid cancers, ATC is responsible for the vast majority of thyroid cancer-related deaths<sup>1</sup>. It predominantly affects older individuals, with an average onset age of 65, and is rarely seen in patients under the age of 40. ATC arises from undifferentiated thyroid follicular cells, and thus far, no fully effective treatment has been established for this malignancy. Conventional therapeutic approaches have generally been ineffective in controlling the disease (Chiacchio et al., 2008; Molinaro et al., 2017). Therefore, novel therapeutic agents capable of prolonging survival and increasing chemosensitivity in otherwise untreatable cases are urgently needed.

Dabrafenib is a kinase inhibitor utilized in the treatment of specific types of melanoma, non-small cell lung cancer, and thyroid cancer. As a selective inhibitor of BRAFV600E kinase activity, dabrafenib (DAB) is particularly effective in targeting malignancies harboring this mutation. When combined with trametinib, a mitogen-activated protein kinase (MEK) inhibitor, dabrafenib demonstrates synergistic effects, leading to enhanced antitumor activity and improved response rates in patients (Subbiah et al., 2018). DAB can be used alone or in

combination with trametinib for the treatment of metastatic or unresectable melanoma, advanced non-small cell lung cancer, and ATC displaying the BRAFV600 mutation (Puzkiel et al., 2019).

Metformin (MET) is widely recognized as a first-line therapeutic agent for the management of type 2 diabetes mellitus (T2DM). As an oral biguanide, its safety and efficacy are well established (Crandall et al., 2008). Beyond its role in glycemic

control, MET has gained attention for its potential role in cancer treatment and oncoprevention (Evans et al., 2005; Klubo-Gwiedzinska et al., 2013). Notably, its regulatory effects on the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway have been demonstrated across various cancer cell lines (Melnik et al., 2018).

Mutations in several components of the Wnt signaling pathway have been identified in ATC. The involvement of the Wnt pathway, together with key components such as Axin and  $\beta$ -catenin, suggests that targeting this pathway may offer a promising therapeutic approach for this otherwise incurable disease (Sastre-Perona & Santisteban, 2012). Based on the data obtained thus far, the activity of dabrafenib and metformin on signaling pathways and apoptosis has been investigated individually; however, the combined effects of these agents on cytotoxicity, apoptosis, and cellular processes associated with the Wnt signaling pathway—an established escape mechanism—remain unclear, particularly with regard to cell survival.

The aim of this study was to investigate the effects of dabrafenib, both as a single agent and in combination with metformin, on cytotoxicity, apoptosis, and gene expression changes related to the Wnt signaling pathway in an ATC cell line.

## **2. STUDY CONTENT**

### **2.1. Cell Line, Culture Conditions, and Chemicals**

We investigated the effects of DAB and MET, both individually and in combination, on the SW1736 cell line procured from the American Type Culture Collection (ATCC). The cells were cultured in RPMI 1640 medium (Capricorn Scientific) supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum (Capricorn Scientific), 1% L-glutamine, and 100 units penicillin-streptomycin/ml.

The cell culture was maintained in a CO<sub>2</sub> incubator at 37 °C with a 5% CO<sub>2</sub> atmosphere. Cell evaluation and counting were conducted using inverted and light microscopes.

Ethical approval was deemed not necessary as the study exclusively utilized cell culture methods.

## **2.2. Measurement of Cytotoxicity**

The cytotoxic effects of DAB, MET, and their combination were assessed through MTT assays. Cells were seeded in 96-well plates and cultured for 24, 48, and 72 hours.

DAB was administered in dose ranges of 1 mM, 500 µM, 250 µM, 125 µM, 62.5 µM, 31.25 µM, 15.62 µM, and 7.81 µM, while MET was applied in dose ranges of 100 mM, 50 mM, 25 mM, 12.5 mM, 6.25 mM, 3.125 mM, and 1.56 mM.

Following incubation with a 5 mg/mL MTT solution for 4 hours, IC<sub>50</sub> values for DAB and MET were determined individually. Subsequently, the combination of DAB and MET was examined.

IC<sub>50</sub> doses and combination effect values, indicating the inhibitory concentrations resulting in a 50% decrease in cell proliferation, were calculated for DAB, MET, and their combinations using Calcosyn software.

## **2.3. Assessment of Apoptosis**

Apoptosis analyses were performed according to the protocol of the FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit (Invitrogen). Following a 48-hour incubation period, cells were harvested, transferred into tubes, and centrifuged. Cells were washed twice with PBS.

Subsequently, the cells were resuspended in 400 µl of Binding Buffer. Annexin FITC (5 µl) and propidium iodide (PI)

(5 µl) were added and incubated at room temperature for 15 minutes.

Apoptotic cells were detected using a flow cytometer (BD Accuri C6). Untreated cells served as the control group.

#### **2.4. Evaluation of Gene Expression Alterations**

Total RNA extraction from the cell line was conducted using the RNeasy Kit (Qiagen). cDNA synthesis was subsequently performed using the RT<sup>2</sup> First Strand Kit.

Gene expression changes related to the WNT signaling pathway were analyzed using the RT<sup>2</sup> Profiler™ PCR Array Human WNT Signaling Pathway Plus (PAHS-043Y). Quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) analyses were performed using the LightCycler 480 system (Roche Molecular Systems Inc.).

#### **2.5. Data Analysis**

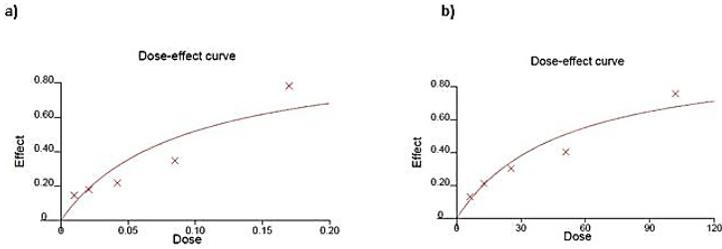
The statistical analysis of the cytotoxic effects of DAB and MET in SW1736 cells was conducted using GraphPad Prism v5.0 (GraphPad, La Jolla, CA).

Gene expression data were analyzed using the  $\Delta\Delta C_t$  method through the GeneGlobe Data Analysis Center provided by QIAGEN.

### **3. RESULTS**

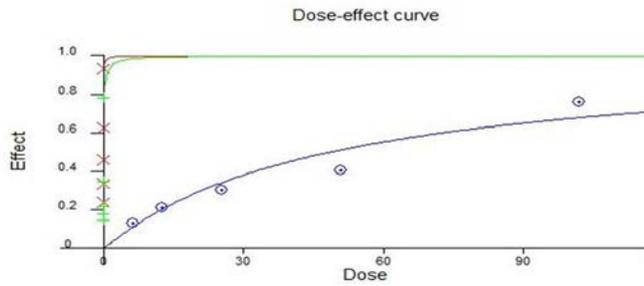
#### **3.1. Cytotoxicity of Dabrafenib and Metformin in Single and Combination Treatment**

According to the cytotoxicity assay, IC<sub>50</sub> values were found to be 0.092 mM for Dab and 48.55 mM for Met at 48 hours (Fig. 1).



**Figure 1. Dose-effect curves of Dab (a) and Met (b).**

The Dab-Met combination demonstrated a synergistic effect. As a result of the combination, Dab was determined at 0.0035 mM with a Dose Reduction Index (DRI) of 2.63, while Met was found to be 20.97 mM with a DRI of 2.31 (Fig. 2).

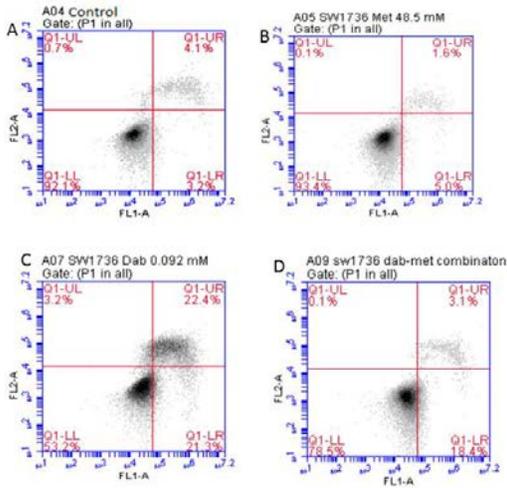


**Figure 2. Dab-Met combination dose-effect curve.**

### **3.2. Apoptotic Effects of Dabrafenib and Metformin**

When apoptosis results were evaluated, single Dab application induced the highest level of apoptosis in SW1736 cells. The apoptosis rate for single Dab application was 43.7%, while single Met application resulted in an apoptosis rate of 6.6%.

The Dab-Met combination treatment yielded an apoptosis rate of 21.5% (Fig. 3).



**Figure 3. Annexin V results of (A) control, (B) metformin (MET), (C) dabrafenib (DAB), and (D) MET+DAB combination on SW1736 cells. Percentages are presented for bottom left: viable cells; bottom right: early apoptotic; top right: late apoptotic; top left: necrotic cells.**

### **3.3. Gene Expression Alterations in the WNT Signaling Pathway**

Gene expression analysis revealed that the Dab-Met combination administered at ED50 concentrations induced more pronounced alterations in genes related to the WNT signaling pathway compared with the individual applications of Dab or Met at their respective IC50 concentrations.

Notably, the mRNA expression levels of several genes commonly overexpressed in various cancer types were significantly reduced following the Dab-Met combination treatment (Table 1).

**Table 1. Fold changes in the expression levels of genes related to the WNT signaling pathway.**

<b>GENE</b>	<b>Dab</b>	<b>p value</b>	<b>Met</b>	<b>p value</b>	<b>Dab+Met</b>	<b>p value</b>
AXIN2	4.13	0.000006	-2	0.000100	1.89	0.000055
CTNNBIP1	-1.25	0.000219	-1.64	0.000103	-2.73	0.000035
FOSL1	-4.64	0.000000	0.22	0.000991	-6.64	0.000000
FRAT1	-5.05	0.000008	-1.88	0.000030	-5.64	0.000008
FZD1	-2.32	0.000000	-2.05	0.000001	-4.32	0.000000
FZD4	-2.25	0.000020	-0.13	0.102382	-2.47	0.000017
FZD8	-1	0.000173	-0.16	0.062628	-2.18	0.000020
NFATC1	-2	0.000011	-1.25	0.000039	-2.83	0.000006
NKD1	-1.59	0.000309	-0.86	0.001987	-4.32	0.000058
RUVBL1	-1.59	0.000002	-1.73	0.000002	-3.32	0.000000
VANGL2	-4.64	0.000290	4.35	0.000120	-5.64	0.000268
WNT10A	-0.81	0.001974	-0.78	0.002214	-2.05	0.000141
WNT3	-3.32	0.000015	-0.62	0.001287	-5.05	0.000011
WNT3A	0.05	0.742767	1.09	0.001934	-2.12	0.000429
WNT5A	-1.95	0.000001	0.88	0.000004	-2.55	0.000001
CXADR	-3.83	0.000247	-5.64	0.000203	-1.83	0.000784
CYP4V2	-3.83	0.000013	-5.64	0.000121	-1.83	0.000010
HSPA12A	-1.94	0.000155	-0.81	0.001982	-6.64	0.000040
LEF1	0.73	0.015737	-4.32	0.000383	-4.64	0.000375
MYC	-1.47	0.000001	0.36	0.000040	-2.05	0.000000

#### **4. DISCUSSION**

Traditional treatments of ATC such as surgical resection, chemotherapy, radiation, and radioiodine have rarely proven beneficial and generally do not provide significant improvement in disease course or overall mortality rates(Saini et al., 2018; Tang et al., 2018). The guidelines from the American Thyroid Association recommend individualized therapeutic regimens for ATC based on comorbidities, disease extent, and genetic mutations(Bible et al., 2021). Advances in understanding the molecular basis of ATC have led to the development of new pharmacological therapies, particularly kinase inhibitors(Marotta et al., 2011, 2013). Therefore, individualized treatment strategies targeting specific somatic mutations may represent a potential therapeutic opportunity for this otherwise incurable disease(Ferrari et al., 2020).

A high frequency of BRAFV600E mutations has been demonstrated in ATC, and BRAFV600E inhibitors such as dabrafenib (DAB) have emerged as potential therapeutic options due to their targeted activity and reduced toxicity. However, the durability of response is often limited by the development of drug resistance(Iyer et al., 2018; Karoulia et al., 2017). To the best of our knowledge, this study is the first to investigate the effects of DAB alone and in combination with metformin (MET) on apoptosis and the Wnt signaling pathway in ATC.

Previous studies have reported that MET stimulates apoptosis in TPC-1 cells and suppresses cell proliferation(Y. He et al., 2020). Cho et al.(Cho et al., 2014) also demonstrated that MET has therapeutic potential in vivo using a xenograft model of human papillary thyroid cancer. Similarly, Kutbay et al.(Ozdemir Kutbay et al., 2020) showed that MET increased apoptosis in ATC cell lines and that the combination of MET and pioglitazone exerted synergistic effects. Additionally, Kim et al.(Kim et al., 2014) reported that the interaction between the Wnt pathway and upstream insulin signaling pathways may represent a novel mechanism underlying the effects of MET on GLP-1 production. Kang et al.(Kang et al., 2021) further demonstrated that MET and niclosamide synergistically suppress the Wnt signaling pathway in APC-mutated colorectal cancer.

The Wnt/ $\beta$ -catenin pathway is closely associated with the development and progression of several cancers, particularly colon carcinoma(Jung & Park, 2020; Novellademunt et al., 2015; Park et al., 2019). Consequently, this pathway has been extensively investigated as a potential target for therapeutic intervention(Sastre-Perona & Santisteban, 2012). Conza et al.(Conza et al., 2021) demonstrated that MET inhibited the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in endometrial cancer cells by suppressing  $\beta$ -catenin expression at both the protein and mRNA

levels. Park et al.(Park et al., 2019) also showed that  $\beta$ -catenin inhibition was dependent on AMPK activation.

Adenomatous polyposis coli (APC) is a tumor suppressor gene that plays a critical role in Wnt signaling by facilitating the degradation of CTNNB1 and acting as a negative regulator of the pathway. Zeki et al.(Zeki et al., 1994) reported that the APC gene is expressed in both normal and neoplastic thyroid tissues and may serve as a target for inactivating mutations in thyroid cancers. Furthermore, Li et al.(Li et al., 2017) demonstrated that MALAT1 can activate the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in hepatocytes by down-regulating APC expression. In the present study, the decrease in APC expression observed in cells treated with DAB may suggest a potential role in inhibiting invasion and reducing cell viability in ATC cells.

Axis inhibition protein 2 (AXIN2) functions as a suppressor of the Wnt signaling pathway by facilitating the phosphorylation of  $\beta$ -catenin and APC through GSK3B(Wu et al., 2012). Reduced AXIN2 expression has previously been reported in patients with papillary thyroid carcinoma compared with healthy control(M. He et al., 2015). In contrast, in the current study we observed increased AXIN2 expression in cells treated with DAB.

Catenin Beta 1 (CTNNB1) is a key component of the canonical Wnt signaling pathway(Lillehoj et al., 2007). Wiseman et al.(Wiseman et al., 2011) demonstrated that CTNNB1 expression is significantly increased in ATC compared with differentiated thyroid cancers. Decreased  $\beta$ -catenin expression(Wiseman et al., 2006) and CTNNB1 exon 3 mutations have also been reported during ATC development(Garcia-Rostan et al., 2001). Conversely, Hebrant et al.(Hébrant et al., 2012) reported no CTNNB1 mutations in a cohort of 11 ATC samples.

In the present study, decreased CTNNB1 expression was detected in ATC cells treated with MET.

E1A Binding Protein P300 (EP300) regulates transcription through chromatin remodeling and functions as a histone acetyltransferase(Ogryzko et al., 1996). Pitt et al.(Pitt et al., 2016) identified EP300 as a novel oncogenic mutation in thyroid cancer. In addition, EP300 has been reported as one of the key genes involved in the development and pathogenesis of papillary thyroid cancer(Qi et al., 2021). Kasaian et al.(Kasaian et al., 2015) also reported frame-shift deletions of EP300 in ATC. In the current study, decreased EP300 expression in ATC cells treated with the MET+DAB combination was associated with increased apoptosis.

Matrix Metalloproteinase 7 (MMP7) belongs to the peptidase M10 family of matrix metalloproteinases and is frequently overexpressed in multiple human cancers(Fagerberg et al., 2014). Chen et al.(Chen et al., 2012) demonstrated that down-regulation of MMP7 inhibited metastasis in human ATC cell lines. However, Buergy et al.(Buergy et al., 2009) reported that MMP7 did not significantly increase invasiveness or metastasis in thyroid carcinomas. In the present study, increased MMP7 expression was observed in ATC cells treated with DAB and the MET+DAB combination.

Cyclin D1 (CCND1) is a member of the cyclin family and plays an important role in cell cycle regulation(Fagerberg et al., 2014). CCND1 expression has been detected at varying levels in approximately 67% of ATC cases(Lee et al., 2008), and its overexpression has been reported in up to 77% of ATC tumors(Wiseman et al., 2007). Ferrari et al.(Ferrari et al., 2018) demonstrated that vandetanib downregulated CCND1 protein expression in ATC cells. Recently, Buddham et al.(Buddham et al., 2022) identified CCND1 as a hub gene in ATC and

demonstrated its prognostic significance through survival analyses. In the present study, decreased CCND1 expression was observed in ATC cells treated with DAB and the MET+DAB combination.

MYC proto-oncogene encodes a nuclear phosphoprotein that plays a crucial role in apoptosis, cell cycle progression, and cellular transformation (Fagerberg et al., 2014). Enomoto et al. (Enomoto et al., 2017) suggested that inhibition of MYC at the transcriptional level may represent a potential therapeutic strategy for ATC. In contrast, Bieche et al. (Bièche et al., 2001) reported that MYC overexpression was not detected in thyroid tumor samples. In the present study, decreased MYC expression was observed in ATC cells treated with the DAB and MET+DAB combination.

Overall, our findings demonstrate that the combination of DAB and MET synergistically inhibits ATC cell proliferation, enhances apoptosis, and modulates Wnt signaling. The observed downregulation of oncogenes (MYC, CCND1, CTNNB1) together with the upregulation of tumor suppressor-related genes such as AXIN2 suggests that targeting the BRAF–Wnt signaling axis may represent an effective therapeutic strategy for ATC. Furthermore, the combined treatment showed inhibitory effects on APC, EP300, and MYC expression, providing additional insights into the potential molecular mechanisms underlying this combination therapy.

## **5. CONCLUSION**

The present study demonstrates that dabrafenib and metformin exert significant effects on ATC cells by reducing proliferation, promoting apoptosis, and modulating the Wnt signaling pathway. The synergistic interaction observed between these agents suggests that targeting both oncogenic signaling

pathways and cellular metabolic mechanisms may provide a more effective therapeutic strategy for anaplastic thyroid carcinoma.

Alterations detected in key Wnt-related genes, including AXIN2, CTNNB1, CCND1, and MYC, indicate that modulation of this pathway may play an important role in the antitumor effects of the DAB-MET combination. These findings highlight the potential value of combining BRAF inhibition with metabolic therapy in ATC treatment.

Further experimental and clinical studies are required to better understand the molecular mechanisms underlying these effects and to evaluate the potential clinical applicability of this therapeutic approach.

## REFERENCES

- Bible, K. C., Kebebew, E., Brierley, J., Brito, J. P., Cabanillas, M. E., Clark, T. J., Di Cristofano, A., Foote, R., Giordano, T., Kasperbauer, J., Newbold, K., Nikiforov, Y. E., Randolph, G., Rosenthal, M. S., Sawka, A. M., Shah, M., Shaha, A., Smallridge, R., & Wong-Clark, C. K. (2021). 2021 American Thyroid Association Guidelines for Management of Patients with Anaplastic Thyroid Cancer. In *Thyroid* (Vol. 31, Number 3). <https://doi.org/10.1089/thy.2020.0944>
- Bièche, I., Franc, B., Vidaud, D., Vidaud, M., & Lidereau, R. (2001). Analyses of MYC, ERBB2, and CCND1 genes in benign and malignant thyroid follicular cell tumors by real-time polymerase chain reaction. *Thyroid*, 11(2). <https://doi.org/10.1089/105072501300042802>
- Buddham, R., Chauhan, S., Narad, P., & Mathur, P. (2022). Reconstruction and Exploratory Analysis of mTORC1 Signaling Pathway and Its Applications to Various Diseases Using Network-Based Approach. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(3). <https://doi.org/10.4014/jmb.2108.08007>
- Buergy, D., Weber, T., Maurer, G. D., Mudduluru, G., Medved, F., Leupold, J. H., Brauckhoff, M., Post, S., Dralle, H., & Allgayer, H. (2009). Urokinase receptor, MMP-1 and MMP-9 are markers to differentiate prognosis, adenoma and carcinoma in thyroid malignancies. *International Journal of Cancer*, 125(4). <https://doi.org/10.1002/ijc.24462>
- Chen, S. T., Liu, D. W., Lin, J. Der, Chen, F. W., Huang, Y. Y., & Hsu, B. R. S. (2012). Down-regulation of matrix metalloproteinase-7 inhibits metastasis of human anaplastic thyroid cancer cell line. *Clinical and*

*Experimental Metastasis*, 29(1).  
<https://doi.org/10.1007/s10585-011-9430-8>

Chiacchio, S., Lorenzoni, A., Boni, G., Rubello, D., Elisei, R., & Mariani, G. (2008). Anaplastic thyroid cancer: Prevalence, diagnosis and treatment. In *Minerva Endocrinologica* (Vol. 33, Number 4).

Cho, S. W., Yi, K. H., Han, S. K., Sun, H. J., Kim, Y. A., Oh, B. C., Park, Y. J., & Park, D. J. (2014). Therapeutic potential of metformin in papillary thyroid cancer in vitro and in vivo. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 393(1–2).  
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2014.05.021>

Conza, D., Mirra, P., Cali, G., Insabato, L., Fiory, F., Beguinot, F., & Ulianich, L. (2021). Metformin dysregulates the unfolded protein response and the WNT/ $\beta$ -catenin pathway in endometrial cancer cells through an AMPK-independent mechanism. *Cells*, 10(5).  
<https://doi.org/10.3390/cells10051067>

Crandall, J. P., Knowler, W. C., Kahn, S. E., Marrero, D., Florez, J. C., Bray, G. A., Haffner, S. M., Hoskin, M., & Nathan, D. M. (2008). The prevention of type 2 diabetes. In *Nature Clinical Practice Endocrinology and Metabolism* (Vol. 4, Number 7).  
<https://doi.org/10.1038/ncpendmet0843>

Enomoto, K., Zhu, X., Park, S., Zhao, L., Zhu, Y. J., Willingham, M. C., Qi, J., Copland, J. A., Meltzer, P., & Cheng, S. Y. (2017). Targeting MYC as a therapeutic intervention for anaplastic thyroid cancer. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 102(7).  
<https://doi.org/10.1210/jc.2016-3771>

Evans, J. M. M., Donnelly, L. A., Emslie-Smith, A. M., Alessi, D. R., & Morris, A. D. (2005). Metformin and reduced risk

of cancer in diabetic patients. *British Medical Journal*, 330(7503).

<https://doi.org/10.1136/bmj.38415.708634.F7>

Fagerberg, L., Hallstrom, B. M., Oksvold, P., Kampf, C., Djureinovic, D., Odeberg, J., Habuka, M., Tahmasebpoor, S., Danielsson, A., Edlund, K., Asplund, A., Sjostedt, E., Lundberg, E., Szigartyo, C. A. K., Skogs, M., Ottosson Takanen, J., Berling, H., Tegel, H., Mulder, J., ... Uhlen, M. (2014). Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. *Molecular and Cellular Proteomics*, 13(2). <https://doi.org/10.1074/mcp.M113.035600>

Ferrari, S. M., Bocci, G., Di Desidero, T., Ruffilli, I., Elia, G., Ragusa, F., Fioravanti, A., Orlandi, P., Paparo, S. R., Patrizio, A., Piaggi, S., La Motta, C., Ulisse, S., Baldini, E., Materazzi, G., Miccoli, P., Antonelli, A., & Fallahi, P. (2018). Vandetanib has antineoplastic activity in anaplastic thyroid cancer, in vitro and in vivo. *Oncology Reports*, 39(5). <https://doi.org/10.3892/or.2018.6305>

Ferrari, S. M., Elia, G., Ragusa, F., Ruffilli, I., La Motta, C., Paparo, S. R., Patrizio, A., Vita, R., Benvenga, S., Materazzi, G., Fallahi, P., & Antonelli, A. (2020). Novel treatments for anaplastic thyroid carcinoma. *Gland Surgery*, 9. <https://doi.org/10.21037/gs.2019.10.18>

Garcia-Rostan, G., Camp, R. L., Herrero, A., Carcangiu, M. L., Rimm, D. L., & Tallini, G. (2001).  $\beta$ -catenin dysregulation in thyroid neoplasms: Down-regulation, aberrant nuclear expression, and CTNNB1 exon 3 mutations are markers for aggressive tumor phenotypes and poor prognosis. *American Journal of Pathology*, 158(3). [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64045-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64045-X)

- He, M., Zhao, Y., Yi, H., Sun, H., Liu, X., & Ma, S. (2015). The combination of TP53INP1, TP53INP2 and AXIN2: potential biomarkers in papillary thyroid carcinoma. In *Endocrine* (Vol. 48, Number 2). <https://doi.org/10.1007/s12020-014-0341-8>
- He, Y., Cao, L., Wang, L., Liu, L., Huang, Y., & Gong, X. (2020). Metformin inhibits proliferation of human thyroid cancer TPC-1 cells by decreasing LRP2 to suppress the JNK pathway. *OncoTargets and Therapy*, 13. <https://doi.org/10.2147/OTT.S227915>
- Hébrant, A., Dom, G., Dewaele, M., Andry, G., Trésallet, C., Leteurtre, E., Dumont, J. E., & Maenhaut, C. (2012). mRNA Expression in Papillary and Anaplastic Thyroid Carcinoma: Molecular Anatomy of a Killing Switch. *PLoS ONE*, 7(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037807>
- Iyer, P. C., Dadu, R., Ferrarotto, R., Busaidy, N. L., Habra, M. A., Zafereo, M., Gross, N., Hess, K. R., Gule-Monroe, M., Williams, M. D., & Cabanillas, M. E. (2018). Real-world experience with targeted therapy for the treatment of anaplastic thyroid carcinoma. *Thyroid*, 28(1). <https://doi.org/10.1089/thy.2017.0285>
- Jung, Y. S., & Park, J. Il. (2020). Wnt signaling in cancer: therapeutic targeting of Wnt signaling beyond  $\beta$ -catenin and the destruction complex. In *Experimental and Molecular Medicine* (Vol. 52, Number 2). <https://doi.org/10.1038/s12276-020-0380-6>
- Kang, H. E., Seo, Y., Yun, J. S., Song, S. H., Han, D., Cho, E. S., Cho, S. B., Jeon, Y., Lee, H., Kim, H. S., Kang, J., Yook, J. I., Kim, N. H., & Kim, T. Il. (2021). Metformin and niclosamide synergistically suppress wnt and yap in apc-

- mutated colorectal cancer. *Cancers*, 13(14).  
<https://doi.org/10.3390/cancers13143437>
- Karoulia, Z., Gavathiotis, E., & Poulidakos, P. I. (2017). New perspectives for targeting RAF kinase in human cancer. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 17, Number 11).  
<https://doi.org/10.1038/nrc.2017.79>
- Kasaian, K., Wiseman, S. M., Walker, B. A., Schein, J. E., Zhao, Y., Hirst, M., Moore, R. A., Mungall, A. J., Marra, M. A., & Jones, S. J. M. (2015). The genomic and transcriptomic landscape of anaplastic thyroid cancer: Implications for therapy. *BMC Cancer*, 15(1).  
<https://doi.org/10.1186/s12885-015-1955-9>
- Kim, M. H., Jee, J. H., Park, S., Lee, M. S., Kim, K. W., & Lee, M. K. (2014). Metformin enhances glucagon-like peptide 1 via cooperation between insulin and Wnt signaling. *Journal of Endocrinology*, 220(2).  
<https://doi.org/10.1530/JOE-13-0381>
- Klubo-Gwiezdzinska, J., Costello, J., Patel, A., Bauer, A., Jensen, K., Mete, M., Burman, K. D., Wartofsky, L., & Vasko, V. (2013). Treatment with metformin is associated with higher remission rate in diabetic patients with thyroid cancer. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 98(8). <https://doi.org/10.1210/jc.2012-3799>
- Lee, J. J., Au, A. Y. M., Foukakis, T., Barbaro, M., Kiss, N., Clifton-Bligh, R., Staaf, J., Borg, Å., Delbridge, L., Robinson, B. G., Wallin, G., Höög, A., & Larsson, C. (2008). Array-CGH identifies cyclin D1 and UBC10 amplicons in anaplastic thyroid carcinoma. *Endocrine-Related Cancer*, 15(3). <https://doi.org/10.1677/ERC-08-0018>

- Li, C., Chang, L., Chen, Z., Liu, Z., Wang, Y., & Ye, Q. (2017). The role of lncRNA MALAT1 in the regulation of hepatocyte proliferation during liver regeneration. *International Journal of Molecular Medicine*, 39(2). <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.2854>
- Lillehoj, E. P., Lu, W., Kiser, T., Goldblum, S. E., & Kim, K. C. (2007). MUC1 inhibits cell proliferation by a  $\beta$ -catenin-dependent mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1773(7). <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2007.04.009>
- Marotta, V., Guerra, A., Sapio, M. R., & Vitale, M. (2011). RET/PTC rearrangement in benign and malignant thyroid diseases: A clinical standpoint. In *European Journal of Endocrinology* (Vol. 165, Number 4). <https://doi.org/10.1530/EJE-11-0499>
- Marotta, V., Guerra, A., Zatelli, M. C., Degli Uberti, E. C., Di Stasi, V., Faggiano, A., Colao, A., & Vitale, M. (2013). BRAF mutation positive papillary thyroid carcinoma is less advanced when Hashimoto's thyroiditis lymphocytic infiltration is present. *Clinical Endocrinology*, 79(5). <https://doi.org/10.1111/cen.12194>
- Melnik, S., Dvornikov, D., Müller-Decker, K., Depner, S., Stannek, P., Meister, M., Warth, A., Thomas, M., Muley, T., Risch, A., Plass, C., Klingmüller, U., Niehrs, C., & Glinka, A. (2018). Cancer cell specific inhibition of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling by forced intracellular acidification. *Cell Discovery*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/s41421-018-0033-2>
- Molinaro, E., Romei, C., Biagini, A., Sabini, E., Agate, L., Mazzeo, S., Materazzi, G., Sellari-Franceschini, S., Ribechini, A., Torregrossa, L., Basolo, F., Vitti, P., & Elisei, R. (2017). Anaplastic thyroid carcinoma: From

- clinicopathology to genetics and advanced therapies. In *Nature Reviews Endocrinology* (Vol. 13, Number 11). <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.76>
- Novellademunt, L., Antas, P., & Li, V. S. W. (2015). Targeting Wnt signaling in colorectal cancer. A review in the theme: Cell signaling: Proteins, pathways and mechanisms. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 309(8). <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00117.2015>
- Ogryzko, V. V., Schiltz, R. L., Russanova, V., Howard, B. H., & Nakatani, Y. (1996). The transcriptional coactivators p300 and CBP are histone acetyltransferases. *Cell*, 87(5). [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)82001-2](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)82001-2)
- Ozdemir Kutbay, N., Biray Avcı, C., Sarer Yurekli, B., Caliskan Kurt, C., Shademan, B., Gunduz, C., & Erdogan, M. (2020). Effects of metformin and pioglitazone combination on apoptosis and AMPK/mTOR signaling pathway in human anaplastic thyroid cancer cells. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 34(10). <https://doi.org/10.1002/jbt.22547>
- Park, S. Y., Kim, D., & Kee, S. H. (2019). Metformin-activated AMPK regulates  $\beta$ -catenin to reduce cell proliferation in colon carcinoma RKO cells. *Oncology Letters*, 17(3). <https://doi.org/10.3892/ol.2019.9892>
- Pitt, S. C., Hernandez, R. A., Nehs, M. A., Gawande, A. A., Moore, F. D., Ruan, D. T., & Cho, N. L. (2016). Identification of novel oncogenic mutations in thyroid cancer. *Journal of the American College of Surgeons*, 222(6). <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2015.12.047>
- Puszkiet, A., Noé, G., Bellesoeur, A., Kramkimel, N., Paludetto, M. N., Thomas-Schoemann, A., Vidal, M., Goldwasser,

- F., Chatelut, E., & Blanchet, B. (2019). Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Dabrafenib. In *Clinical Pharmacokinetics* (Vol. 58, Number 4). <https://doi.org/10.1007/s40262-018-0703-0>
- Qi, T., Rong, X., Feng, Q., Sun, H., Cao, H., Yang, Y., Feng, H., Zhu, L., Wang, L., & Du, Q. (2021). Somatic mutation profiling of papillary thyroid carcinomas by whole-exome sequencing and its relationship with clinical characteristics. *International Journal of Medical Sciences*, 18(12). <https://doi.org/10.7150/ijms.50916>
- Saini, S., Tulla, K., Maker, A. V., Burman, K. D., & Prabhakar, B. S. (2018). Therapeutic advances in anaplastic thyroid cancer: A current perspective. In *Molecular Cancer* (Vol. 17, Number 1). <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0903-0>
- Sastre-Perona, A., & Santisteban, P. (2012). Role of the Wnt pathway in thyroid cancer. In *Frontiers in Endocrinology* (Vol. 3, Number FEB). <https://doi.org/10.3389/fendo.2012.00031>
- Subbiah, V., Cabanillas, M. E., Kreitman, R. J., Wainberg, Z. A., Cho, J. Y., Keam, B., Schellens, J. H. M., Soria, J. C., Wen, P. Y., Zielinski, C., Urbanowitz, G., Mookerjee, B., Wang, D., & Rangwala, F. (2018). Dabrafenib and trametinib treatment in patients with locally advanced or metastatic BRAF V600-mutant anaplastic thyroid cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 36(1). <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.73.6785>
- Tang, J., Shalabi, A., & Hubbard-Lucey, V. M. (2018). Comprehensive analysis of the clinical immunoncology landscape. In *Annals of Oncology* (Vol. 29, Number 1). <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx755>

- Wiseman, S. M., Griffith, O. L., Gown, A., Walker, B., & Jones, S. J. M. (2011). Immunophenotyping of thyroid tumors identifies molecular markers altered during transformation of differentiated into anaplastic carcinoma. *American Journal of Surgery*, 201(5). <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2011.01.010>
- Wiseman, S. M., Masoudi, H., Niblock, P., Turbin, D., Rajput, A., Hay, J., Bugis, S., Filipenko, D., Huntsman, D., & Gilks, B. (2007). Anaplastic thyroid carcinoma: Expression profile of targets for therapy offers new insights for disease treatment. *Annals of Surgical Oncology*, 14(2). <https://doi.org/10.1245/s10434-006-9178-6>
- Wiseman, S. M., Masoudi, H., Niblock, P., Turbin, D., Rajput, A., Hay, J., Filipenko, D., Huntsman, D., & Gilks, B. (2006). Derangement of the E-cadherin/catenin complex is involved in transformation of differentiated to anaplastic thyroid carcinoma. *American Journal of Surgery*, 191(5). <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2006.02.005>
- Wu, Z. Q., Brabletz, T., Fearon, E., Willis, A. L., Hu, C. Y., Li, X. Y., & Weiss, S. J. (2012). Canonical Wnt suppressor, Axin2, promotes colon carcinoma oncogenic activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(28). <https://doi.org/10.1073/pnas.1203015109>
- Zeki, K., Spambalg, D., Sharifi, N., Gonsky, R., & Fagin, J. A. (1994). Mutations of the adenomatous polyposis coli gene in sporadic thyroid neoplasms. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 79(5). <https://doi.org/10.1210/jcem.79.5.7962323>

# **BEYOND TYPE I INTERFERON: CONTEXTUAL CONSTRAINTS OF STING SIGNALING AND FUNCTIONAL DIVERSITY OF CYTOSOLIC NUCLEIC ACID SENSING IN CANCER**

**Neslihan Pınar ÖZATEŞ<sup>1</sup>**

## **1. INTRODUCTION**

The detection of cytosolic nucleic acids forms the cornerstone of innate immunity, enabling host cells to recognise misplaced or abnormal DNA and RNA and translate these signals into antiviral and inflammatory transcription programmes. One of these pathways, the cyclic GMP-AMP synthase (cGAS)-STING (stimulator of interferon genes) axis, has emerged as a dominant adapter system linking cytosolic DNA detection to type I interferon (IFN-I) production via TBK1-IRF3 activation. At the same time, it also activates NF-κB and autophagy-related programmes (Ablasser & Chen, 2019; Q. Chen et al., 2016).

STING signaling is widely investigated as an immunotherapy strategy in oncology due to its potent capacity to induce IFN-I and promote cross-priming of dendritic cells. Preliminary studies have demonstrated that STING activation can transform immunologically ‘cold’ tumours into inflammatory microenvironments rich in cytotoxic T lymphocytes (Corrales et al., 2015). However, despite robust pharmacodynamic engagement and induction of interferon-stimulated gene (ISG)

---

<sup>1</sup> Research Asistant, PhD) Harran University Faculty of Medicine, Medical Biology Department, ORCID: 0000-0001-6856-4644.

signatures in early-phase clinical trials, STING agonists have thus far produced limited and context-dependent objective responses in patients (Meric-Bernstam et al., 2022).

This inconsistency between biological activation and clinical response suggests that the problem may not be a failure in the activation of innate immunity. Instead, it may be related to the type of immune response produced by STING. STING signalling primarily triggers type I interferon production. While short-term interferon signalling may stimulate anti-tumour immunity, long-term activation may have the opposite effect. Chronic IFN-I exposure has been associated with T cell exhaustion, increased PD-L1 expression, and the expansion of immunosuppressive myeloid cells in the tumour microenvironment (Benci et al., 2016; Minn, 2015).

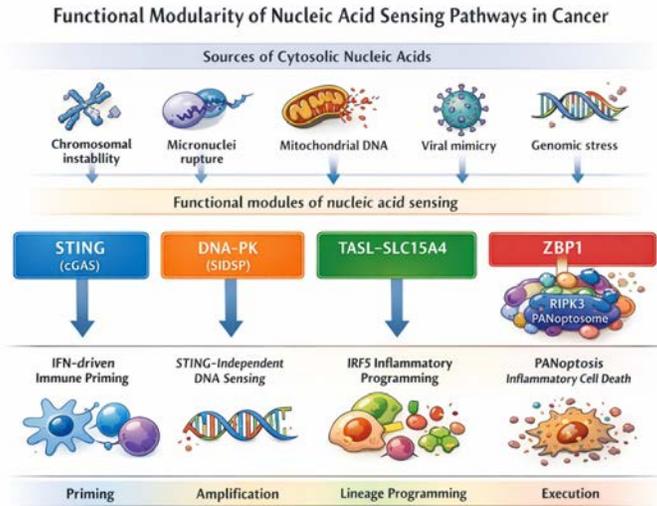
Moreover, STING activity in cancer is highly context-dependent. Tumor-intrinsic STING signaling can be epigenetically silenced in several malignancies (Xia et al., 2016). Conversely, in chromosomally unstable tumors, persistent cytosolic DNA can drive chronic cGAS-STING activation that promotes noncanonical NF- $\kappa$ B signaling and metastasis-associated inflammatory programs (Bakhoun et al., 2018; Hopfner & Hornung, 2020). Taken together, these findings suggest that nucleic acid sensing in tumors is more complex than simply turning interferon signaling on or off. Effective anti-tumor immunity likely depends not only on interferon production, but also on how long and how strongly it is activated, and whether tumor cells undergo immunogenic forms of cell death (Benci et al., 2016; Galluzzi et al., 2023; Minn, 2015).

In parallel with the clinical maturation of STING-targeted strategies, alternative cytosolic and endolysosomal nucleic acid sensing axes have emerged. These include the DNA-PK-mediated STING-independent DNA sensing pathway (SIDSP) in

human cells, the SLC15A4-TASL adaptor complex linking endolysosomal TLR7/8/9 signaling to IRF5 activation, and the ZBP1 pathway, which detects Z-form nucleic acids and triggers PANoptotic cell death via RIPK3-dependent scaffolding (Burleigh et al., 2020; Heinz et al., 2020; Jiao et al., 2020; Zheng & Kanneganti, 2020b). These pathways differ markedly in transcriptional bias, interferon dependence, and coupling to regulated cell death, suggesting that innate sensing outputs are functionally modular rather than uniform.

We suggest that the limited clinical success of STING agonists in cancer may be related to the type of immune response they predominantly generate. STING activation is largely centered on sustained type I interferon signaling, which may not be sufficient on its own to drive durable tumor control. In some contexts, this interferon-dominant response may even become counterproductive. Therefore, future therapeutic strategies may need to move beyond a strictly interferon-focused approach. Instead of amplifying STING signaling alone, it may be more effective to combine or redirect nucleic acid sensing pathways toward tumor-restricted inflammation, myeloid reprogramming, or direct induction of immunogenic tumor cell death.

In this Review, we first dissect the molecular architecture and transcriptional output bias of STING signaling in cancer. We then systematically analyze the translational limitations observed in clinical development. Finally, we examine emerging nucleic acid sensing axes - including SIDSP, TASL-dependent IRF5 signaling, and ZBP1-mediated PANoptosis- as potential avenues for functional diversification of innate immune activation in oncology (Figure 1).



**Figure 1. Functional modularity of nucleic acid sensing**

## **2. MOLECULAR ARCHITECTURE OF THE CGAS-STING PATHWAY**

The cGAS-STING pathway is activated when double-stranded DNA accumulates in the cytosol. This can occur during viral infection, genomic instability, micronuclei rupture, or mitochondrial stress - all of which are relevant in cancer biology (Ishikawa & Barber, 2008). The pathway begins with cGAS, a cytosolic DNA sensor (Sun et al., 2013). When cGAS binds DNA, it synthesizes the cyclic dinucleotide 2'3'-cGAMP, which acts as a second Messenger. cGAMP binds to STING, an adaptor protein located on the endoplasmic reticulum (ER) membrane. Upon activation, STING translocates from the ER to the Golgi apparatus. This trafficking step is essential for downstream signaling (J et al., 2013). During this process, STING recruits and activates TBK1, which phosphorylates IRF3 (Tanaka & Chen, 2012). Activated IRF3 enters the nucleus and induces

transcription of type I interferons, particularly IFN- $\beta$ . In parallel, STING signaling can activate NF- $\kappa$ B, leading to the expression of additional inflammatory cytokines (Abe & Barber, 2014). Importantly, STING signaling is not limited to interferon induction. It can also intersect with autophagy-related pathways and stress responses, depending on activation strength and cellular context (Gui et al., 2019).

### **3. FUNCTIONAL CONSTRAINTS OF STING SIGNALING IN CANCER**

Although the cGAS-STING pathway is clearly organized at the molecular level, its effects in cancer are more complex and sometimes limited. In many cases, activating STING does not automatically lead to sustained tumor control. Understanding this requires looking beyond the signaling cascade itself and focusing on the type of immune response STING actually generates.

#### **3.1. IFN-Dominant Transcriptional Output**

Recent studies suggest that the functional output of STING signaling in cancer is not simply defined by activation strength, but by the qualitative structure of the transcriptional program it induces. Beyond initiating innate immune responses, STING activation leads to a broad interferon-stimulated gene (ISG) signature that can reshape the tumor microenvironment in both supportive and suppressive directions (Seok et al., 2023).

Single-cell and transcriptomic analyses have shown that STING activation generates a highly conserved interferon-centered gene module, often characterized by strong STAT1-dependent signaling (Liu et al., 2023). In several tumor models, sustained interferon signaling has been associated with adaptive resistance programs, including upregulation of immune checkpoints, antigen presentation modulators, and stress-

response pathways rather than direct cytotoxic mechanisms(Luo et al., 2022). More recent work indicates that chromosomal instability-driven cGAS-STING activation in tumor cells can preferentially engage noncanonical NF- $\kappa$ B pathways while maintaining a persistent interferon signature(Hou et al., 2018). In these contexts, the interferon program does not necessarily correlate with tumor rejection but may instead contribute to chronic inflammatory states that support tumor survival and dissemination(Q. Wang et al., 2025).

Importantly, comparative transcriptomic studies suggest that STING-induced gene expression profiles are less diverse than other innate sensing pathways that more directly couple sensing to cell death or inflammasome activation(Zhao et al., 2021). While STING efficiently primes antigen-presenting cells, it appears less capable of driving intrinsic tumor cell death programs without additional stress signals.

These findings point toward a central limitation: STING signaling tends to amplify interferon-responsive networks more strongly than it diversifies inflammatory outputs. In tumor environments already shaped by chronic inflammation, further amplification of IFN-I-dependent transcription may reinforce regulatory or resistance-associated programs rather than promote decisive immune clearance.

### **3.2. Acute Versus Chronic STING Activation**

The biological outcome of STING signaling is not determined solely by the magnitude of activation but also by its temporal dynamics. In many immune contexts, STING activation is transient and tightly regulated. Following DNA sensing and cGAMP production, STING traffics from the endoplasmic reticulum to the Golgi, initiates downstream signaling, and is subsequently degraded through lysosomal or autophagy-related pathways. These regulatory mechanisms help limit the duration

of signaling and prevent excessive inflammation (Mosallanejad & Kagan, 2022).

In tumors, however, STING activation can become persistent. Chromosomal instability, micronuclei rupture, and mitochondrial stress can continuously generate cytosolic DNA, leading to sustained cGAS-STING engagement. Under these conditions, the signaling pathway may shift from an acute immune activation program toward a chronic inflammatory state. Rather than promoting effective tumor clearance, prolonged signaling can gradually reshape the tumor microenvironment (Marcut et al., 2025).

Experimental studies suggest that transient STING activation supports dendritic cell maturation and T cell priming, whereas prolonged activation may drive immune regulatory programs. Sustained interferon signaling has been linked to induction of immune checkpoint molecules, metabolic adaptation, and recruitment of suppressive myeloid populations. These changes can ultimately reduce the effectiveness of anti-tumor immunity (Hu et al., 2024).

Another important factor is the cell type in which STING signaling occurs. In antigen-presenting cells, controlled STING activation often promotes productive immune priming. In contrast, chronic STING activation within tumor cells themselves may generate inflammatory signals that do not translate into effective immune elimination. Instead, these signals may contribute to tumor adaptation, tissue remodeling, or metastatic dissemination (L. Wang et al., 2026).

Together, these observations suggest that the therapeutic impact of STING signaling depends strongly on its kinetics. Acute activation may provide a beneficial immune priming signal, whereas persistent activation can gradually promote regulatory or tumor-supportive programs. Understanding this

balance is therefore critical when considering strategies that aim to therapeutically manipulate STING signaling in cancer (Garland et al., 2022).

#### **4. LIMITED COUPLING OF STING SIGNALING TO IMMUNOGENIC CELL DEATH**

Although STING activation plays an important role in initiating innate immune responses, its ability to directly trigger immunogenic tumor cell death appears to be relatively limited. In most contexts, STING signaling primarily promotes interferon production and inflammatory gene expression rather than directly activating cell death pathways. As a result, the anti-tumor effects of STING activation are often mediated indirectly through immune cell recruitment and activation (Wang-Bishop et al., 2020).

In particular, STING-driven type I interferon production supports dendritic cell maturation and cross-priming of CD8<sup>+</sup> T cells, which can subsequently mediate tumor killing. However, this mechanism depends on the presence of functional antigen-presenting cells and an immune-permissive tumor microenvironment. In tumors with strong immunosuppressive features, interferon signaling alone may not be sufficient to induce effective tumor clearance (Benci et al., 2016; Corrales et al., 2015; Woo et al., 2014).

Mechanistically, STING signaling is not uniformly coupled to intrinsic cell death pathways such as apoptosis, necroptosis, or inflammasome-mediated pyroptosis. In many tumor settings, STING activation primarily induces interferon-dominant transcriptional programs, cellular stress responses, and autophagy rather than consistent immunogenic tumor cell death. However, recent studies indicate that under specific pathological conditions, including chronic STING activation or viral infection,

STING can promote ZBP1-dependent necroptotic or PANoptotic programs (Lu et al., 2023; Zhou et al., 2025).

By contrast, other nucleic acid sensing pathways show a much tighter connection between sensing and cell death execution. For example, the ZBP1 pathway can detect Z-form nucleic acids and directly engage RIPK3-dependent signaling complexes that trigger inflammatory cell death programs, including necroptosis and PANoptosis. These mechanisms allow nucleic acid sensing to translate more directly into elimination of infected or damaged cells (Jiao et al., 2020; Mo & Han, 2021).

This difference highlights an important functional distinction between sensing pathways. STING signaling is highly effective at initiating immune priming through interferon production, but it is less efficient at directly executing tumor cell death. As a result, its therapeutic impact may depend on cooperation with additional pathways that provide stronger coupling between nucleic acid sensing and immunogenic cell death (Woo et al., 2014; Zheng & Kanneganti, 2020a).

## **5. TRANSLATIONAL LIMITS OF STING AGONISTS IN CANCER**

The strong immunostimulatory potential of STING signaling has led to considerable interest in developing STING agonists as cancer immunotherapies. Several synthetic cyclic dinucleotides and small-molecule STING agonists have therefore been evaluated in early-phase clinical studies (Su et al., 2019; B. Wang et al., 2024). These include agents such as ADU-S100, MIW815, and MK-1454, which were designed to mimic endogenous cyclic dinucleotide signaling and activate the STING pathway within tumors. In many cases, these agents successfully induced interferon-stimulated gene signatures and local immune activation, indicating that pharmacological STING engagement

could be achieved in patients (Harrington et al., 2018; Ji et al., 2023; Meric-Bernstam et al., 2023).

Despite these encouraging pharmacodynamic effects, clinical responses have generally been modest and often limited to a small subset of patients. Objective tumor regression has been relatively rare in most monotherapy studies, and the overall clinical benefit has been more limited than initially anticipated. These observations suggest that simply activating STING signaling may not be sufficient to overcome the complex immunosuppressive environment present in many tumors (Aval et al., 2020; Hines et al., 2023; Keserci et al., 2025; Zhong et al., 2021).

Several factors may contribute to this translational gap. First, many tumors exhibit defects in the cGAS-STING pathway itself, including epigenetic silencing or reduced expression of pathway components . Such alterations may limit the responsiveness of tumor cells to STING-directed therapies. Second, the interferon-dominant transcriptional program induced by STING activation may not always translate into effective tumor cell killing, particularly in tumors that have already adapted to chronic inflammatory signaling(Konno et al., 2018; Yue et al., 2025).

Another important limitation relates to the spatial and cellular context of STING activation. In preclinical models, STING activation within antigen-presenting cells can efficiently promote T cell priming. However, in human tumors the distribution of STING agonists and the identity of responding cell populations may vary considerably. In some cases, STING signaling may primarily occur within tumor cells or stromal compartments, where the downstream effects may be less effective at generating productive anti-tumor immunity(Benci et al., 2016; Shi et al., 2025; L. Wang et al., 2026).

Together, these observations indicate that the clinical limitations of STING agonists may reflect not only insufficient activation, but also the qualitative nature of the immune programs they induce. Rather than functioning as a universal anti-tumor trigger, STING signaling appears to operate mainly as an immune priming signal whose effectiveness depends strongly on tumor context and the presence of complementary immune mechanisms (Q. Wang et al., 2025; Yue et al., 2025).

## **6. EMERGING ALTERNATIVE NUCLEIC ACID SENSING PATHWAYS IN CANCER**

While STING signaling has received substantial attention as a therapeutic target in cancer immunotherapy, accumulating evidence suggests that cytosolic nucleic acid sensing is mediated by a broader network of pathways. These sensing systems differ in their transcriptional outputs, downstream signaling partners, and coupling to inflammatory or cell death programs. As a result, they may provide complementary or alternative mechanisms for shaping anti-tumor immunity.

Recent studies have identified several nucleic acid sensing pathways that function independently of canonical cGAS-STING signaling. These include the DNA-PK-mediated STING-independent DNA sensing pathway (SIDSP), the SLC15A4-TASL adaptor complex linking endolysosomal Toll-like receptor signaling to IRF5 activation, and the ZBP1 pathway, which detects Z-form nucleic acids and triggers inflammatory cell death. Together, these systems highlight the functional diversity of nucleic acid sensing mechanisms and suggest that innate immune activation in tumors cannot be explained by STING signaling alone ((Burleigh et al., 2020; Heinz et al., 2020; Zheng & Kanneganti, 2020a, 2020b).

Importantly, these pathways appear to differ in the type of immune programs they induce. Some primarily amplify interferon responses, while others preferentially activate inflammatory cytokine production or directly engage regulated cell death pathways. This diversity raises the possibility that combining or selectively engaging different sensing pathways could produce immune responses that are more effective in the tumor context.

### **6.1. STING-Independent DNA Sensing via DNA-PK (SIDSP)**

One of the most notable alternatives to canonical STING signaling is the STING-independent DNA sensing pathway mediated by DNA-dependent protein kinase (DNA-PK). In human cells, DNA-PK can function as a cytosolic DNA sensor capable of activating interferon responses independently of STING. This pathway, often referred to as the STING-independent DNA sensing pathway (SIDSP), provides an additional mechanism for detecting cytosolic DNA and initiating innate immune signaling (Burleigh et al., 2020; Taffoni et al., 2023). Interestingly, recent studies suggest that DNA-PK can also interact with components of the cGAS-STING axis, indicating that these pathways may cooperate or partially overlap depending on cellular context. Together, these findings suggest that DNA-PK contributes to a broader network of DNA sensing mechanisms rather than acting as a strictly isolated pathway (L. Chen et al., 2025).

In this pathway, DNA-PK functions not only as a DNA repair enzyme but also as a cytosolic DNA sensor capable of initiating innate immune signaling. Upon binding foreign or aberrant DNA, DNA-PK can activate downstream signaling cascades that ultimately lead to interferon production. Although the transcriptional output of SIDSP shares similarities with

STING signaling, the upstream sensing mechanism and regulatory context are distinct(De Rosa et al., 2025).

Importantly, the existence of SIDSP suggests that cells retain the ability to detect cytosolic DNA even when the cGAS-STING pathway is inactive or suppressed. This may be particularly relevant in tumors where STING signaling is epigenetically silenced or functionally impaired. In such settings, STING-independent sensing pathways could still contribute to innate immune activation(Hristova et al., 2024; Taffoni et al., 2023).

## **6.2. TASL-SLC15A4 and IRF5-Driven Inflammatory Programs**

Another emerging signaling axis involves the adaptor protein TASL and the lysosomal transporter SLC15A4. In this pathway, SLC15A4 functions as a scaffold that recruits TASL to the endolysosomal compartment following activation of nucleic acid-sensing Toll-like receptors such as TLR7, TLR8, and TLR9. Once localized to this compartment, TASL interacts with and activates the transcription factor IRF5, leading to the induction of type I interferons and pro-inflammatory cytokines. Interestingly, recent studies indicate that the primary role of SLC15A4 in this process may be to facilitate TASL recruitment rather than to act through its transporter activity. This signaling module therefore represents a distinct innate immune pathway that preferentially drives IRF5-dependent inflammatory programs, highlighting an additional layer of functional diversity within nucleic acid sensing networks(Zhang et al., 2023).

Unlike STING signaling, which primarily activates IRF3 and interferon production, the TASL pathway preferentially drives IRF5-dependent transcriptional programs. These programs are often associated with inflammatory cytokine production

rather than a purely interferon-dominated response (Heinz et al., 2020).

This distinction may be important in cancer. While interferon signaling plays a central role in immune priming, inflammatory cytokines can shape immune cell recruitment, macrophage polarization, and local inflammatory conditions within the tumor microenvironment. As a result, TASSL-dependent signaling may represent a mechanism for modulating immune lineage responses rather than simply amplifying interferon production (Li et al., 2023; Monguió-Tortajada, 2026).

### **6.3. ZBP1 and PANoptotic Cell Death**

In contrast to pathways primarily focused on transcriptional activation, the ZBP1 sensing pathway is more closely associated with inflammatory cell death. ZBP1 recognizes Z-form nucleic acids and can initiate signaling complexes that recruit RIPK3 and other components of regulated cell death pathways (Zhan et al., 2024).

Activation of ZBP1 can trigger necroptosis and has also been implicated in the formation of PANoptosomes, multiprotein complexes that integrate components of pyroptosis, apoptosis, and necroptosis. Through these mechanisms, nucleic acid sensing can be functionally coupled to elimination of infected or damaged cells (Jiao et al., 2020; Koerner et al., 2024).

From a cancer perspective, this distinction is significant. While STING signaling primarily promotes immune priming through interferon production, ZBP1 signaling may provide a more direct link between nucleic acid sensing and inflammatory cell death. Such mechanisms may be particularly relevant in tumors where immune priming alone is insufficient to generate effective tumor clearance .

## **7. INTEGRATING NUCLEIC ACID SENSING PATHWAYS IN CANCER IMMUNITY**

Recent advances in innate immune signaling have revealed that nucleic acid sensing in cancer cannot be explained by a single dominant pathway. While the cGAS-STING axis plays a central role in detecting cytosolic DNA and initiating interferon responses, multiple additional sensing systems operate in parallel and contribute distinct functional outputs.

These pathways differ not only in their upstream sensors but also in the type of immune programs they activate. STING signaling primarily promotes interferon-driven immune priming, which can support dendritic cell activation and T cell recruitment. However, as discussed in previous sections, this response alone may not always be sufficient to generate durable anti-tumor immunity.

Other sensing pathways appear to provide complementary functions. For example, DNA-PK-mediated sensing can maintain DNA-triggered immune activation even when STING signaling is impaired. In contrast, TASL-dependent signaling preferentially drives IRF5-mediated inflammatory cytokine programs that shape myeloid and innate immune responses within the tumor microenvironment. Finally, the ZBP1 pathway is more directly linked to regulated inflammatory cell death, enabling nucleic acid sensing to translate into elimination of damaged or infected cells.

Taken together, these observations suggest that nucleic acid sensing in cancer operates as a functionally modular system rather than a single linear pathway. Different sensing axes appear to specialize in distinct immunological tasks, including immune priming, inflammatory amplification, lineage programming, and execution of immunogenic cell death.

From this perspective, the limited clinical activity of STING agonists may reflect the fact that they primarily engage

only one component of this broader sensing network. While STING activation can initiate immune priming, additional pathways may be required to generate the full spectrum of immune responses necessary for effective tumor control.

Future therapeutic strategies may therefore benefit from a more integrated view of nucleic acid sensing. Rather than focusing exclusively on STING activation, it may be possible to selectively combine or modulate multiple sensing pathways to produce coordinated immune responses that are better suited to the complex environment of tumors.

Together, these pathways illustrate that nucleic acid sensing in cancer operates through multiple signaling modules with distinct transcriptional outputs rather than a single dominant pathway (Figure 1).

## **8. CONCLUSION**

Cytosolic nucleic acid sensing represents a fundamental mechanism by which the immune system detects cellular stress, infection, and genomic instability. While the cGAS-STING pathway has emerged as a major focus of cancer immunotherapy research, current evidence suggests that its therapeutic potential may be constrained by the qualitative nature of its downstream signaling outputs. Recognizing the broader diversity of nucleic acid sensing pathways may therefore provide new opportunities for therapeutic intervention. By integrating pathways that drive immune priming, inflammatory signaling, and immunogenic cell death, future strategies may achieve more effective and durable anti-tumor immunity.

## REFERENCES

- Abe, T., & Barber, G. N. (2014). Cytosolic-DNA-mediated, STING-dependent proinflammatory gene induction necessitates canonical NF- $\kappa$ B activation through TBK1. *Journal of Virology*, 88(10), 5328–5341. <https://doi.org/10.1128/jvi.00037-14>
- Ablasser, A., & Chen, Z. J. (2019). CGAS in action: Expanding roles in immunity and inflammation. *Science*, 363(6431). <https://doi.org/10.1126/science.aat8657>
- Aval, L. M., Pease, J. E., Sharma, R., & Pinato, D. J. (2020). Challenges and Opportunities in the Clinical Development of STING Agonists for Cancer Immunotherapy. *Journal of Clinical Medicine* 2020, Vol. 9, Page 3323, 9(10), 3323. <https://doi.org/10.3390/jcm9103323>
- Bakhoun, S. F., Ngo, B., Laughney, A. M., Cavallo, J. A., Murphy, C. J., Ly, P., Shah, P., Sriram, R. K., Watkins, T. B. K., Taunk, N. K., Duran, M., Pauli, C., Shaw, C., Chadalavada, K., Rajasekhar, V. K., Genovese, G., Venkatesan, S., Birkbak, N. J., McGranahan, N., ... Cantley, L. C. (2018). Chromosomal instability drives metastasis through a cytosolic DNA response. *Nature*, 553(7689), 467–472. <https://doi.org/10.1038/nature25432>
- Benci, J. L., Xu, B., Qiu, Y., Wu, T. J., Dada, H., Twyman-Saint Victor, C., Cucolo, L., Lee, D. S. M., Pauken, K. E., Huang, A. C., Gangadhar, T. C., Amaravadi, R. K., Schuchter, L. M., Feldman, M. D., Ishwaran, H., Vonderheide, R. H., Maity, A., Wherry, E. J., & Minn, A. J. (2016). Tumor Interferon Signaling Regulates a Multigenic Resistance Program to Immune Checkpoint

- Blockade. *Cell*, 167(6), 1540-1554.e12.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.11.022>
- Burleigh, K., Maltbaek, J. H., Cambier, S., Green, R., Gale, M., James, R. C., & Stetson, D. B. (2020). Human DNA-PK activates a STING-independent DNA sensing pathway. *Science Immunology*, 5(43).  
<https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aba4219>
- Chen, L., Lin, J., Wen, Y., Guo, Z. Q., Lan, B., Xiong, J., Chen, C. Ben, & Chen, Y. (2025). DNA-PKcs Dysfunction Enhances the Antitumor Activity of Radioimmunotherapy by Activating the cGAS-STING Pathway in HNSCC. *Journal of Inflammation Research*, 18, 4177–4193. <https://doi.org/10.2147/JIR.S497295>
- Chen, Q., Sun, L., & Chen, Z. J. (2016). Regulation and function of the cGAS–STING pathway of cytosolic DNA sensing. *Nature Immunology* 2016 17:10, 17(10), 1142–1149.  
<https://doi.org/10.1038/ni.3558>
- Corrales, L., Glickman, L. H., McWhirter, S. M., Kanne, D. B., Sivick, K. E., Katibah, G. E., Woo, S. R., Lemmens, E., Banda, T., Leong, J. J., Metchette, K., Dubensky, T. W., & Gajewski, T. F. (2015). Direct Activation of STING in the Tumor Microenvironment Leads to Potent and Systemic Tumor Regression and Immunity. *Cell Reports*, 11(7), 1018–1030.  
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.04.031>
- De Rosa, C., Morgillo, F., Amato, L., Iommelli, F., De Rosa, V., Tirino, V., Papaccio, F., Tuccillo, C., Di Guida, G., D'Angiolella, D. M., Di Liello, A., Zappavigna, S., Caraglia, M., Gambardella, A., Nardone, V., Ramkumar, K., Wang, Q., Wang, J., De Vita, F., ... Della Corte, C. M. (2025). DNA-PK inhibition sustains the antitumor innate immune response in small cell lung cancer.

*IScience*, 28(3).  
<https://doi.org/10.1016/j.isci.2025.111943>

Galluzzi, L., Kepp, O., Hett, E., Kroemer, G., & Marincola, F. M. (2023). Immunogenic cell death in cancer: concept and therapeutic implications. *Journal of Translational Medicine*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12967-023-04017-6>

Garland, K. M., Sheehy, T. L., & Wilson, J. T. (2022). Chemical and Biomolecular Strategies for STING Pathway Activation in Cancer Immunotherapy. *Chemical Reviews*, 122(6), 5977. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00750>

Gui, X., Yang, H., Li, T., Tan, X., Shi, P., Li, M., Du, F., & Chen, Z. J. (2019). Autophagy induction via STING trafficking is a primordial function of the cGAS pathway. *Nature*, 567(7747), 262–266. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1006-9>

Harrington, K. J., Brody, J., Ingham, M., Strauss, J., Cemerski, S., Wang, M., Tse, A., Khilnani, A., Marabelle, A., & Golan, T. (2018). Preliminary results of the first-in-human (FIH) study of MK-1454, an agonist of stimulator of interferon genes (STING), as monotherapy or in combination with pembrolizumab (pembro) in patients with advanced solid tumors or lymphomas. *Annals of Oncology*, 29, viii712. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy424.015>

Heinz, L. X., Lee, J. E., Kapoor, U., Kartnig, F., Sedlyarov, V., Papakostas, K., César-Razquin, A., Essletzbichler, P., Goldmann, U., Stefanovic, A., Bigenzahn, J. W., Scorzoni, S., Pizzagalli, M. D., Bensimon, A., Müller, A. C., King, F. J., Li, J., Girardi, E., Mbow, M. L., ... Superti-Furga, G. (2020). TASL is the SLC15A4-

- associated adaptor for IRF5 activation by TLR7-9. *Nature*, 581(7808), 316–322. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2282-0>
- Hines, J. B., Kacaw, A. J., & Sweis, R. F. (2023). The Development of STING Agonists and Emerging Results as a Cancer Immunotherapy. *Current Oncology Reports*, 25(3), 189–199. <https://doi.org/10.1007/s11912-023-01361-0>
- Hopfner, K. P., & Hornung, V. (2020). Molecular mechanisms and cellular functions of cGAS-STING signalling. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 21(9), 501–521. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0244-x>
- Hou, Y., Liang, H., Rao, E., Zheng, W., Huang, X., Deng, L., Zhang, Y., Yu, X., Xu, M., Mauceri, H., Arina, A., Weichselbaum, R. R., & Fu, Y. X. (2018). Non-canonical NF- $\kappa$ B Antagonizes STING Sensor-Mediated DNA Sensing in Radiotherapy. *Immunity*, 49(3), 490-503.e4. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.07.008>
- Hristova, D. B., Oliveira, M., Wagner, E., Melcher, A., Harrington, K. J., Belot, A., & Ferguson, B. J. (2024). DNA-PKcs is required for cGAS/STING-dependent viral DNA sensing in human cells. *IScience*, 27(1). <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.108760>
- Hu, A., Sun, L., Lin, H., Liao, Y., Yang, H., & Mao, Y. (2024). Harnessing innate immune pathways for therapeutic advancement in cancer. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2024 9:1, 9(1), 68-. <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01765-9>
- Ishikawa, H., & Barber, G. N. (2008). STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune

- signalling. *Nature*, 455(7213), 674–678.  
<https://doi.org/10.1038/nature07317>
- J, W., L, S., X, C., F, D., H, S., C, C., & ZJ, C. (2013). Cyclic GMP-AMP is an endogenous second messenger in innate immune signaling by cytosolic DNA. *Science (New York, N.Y.)*, 339(6121).  
<https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1229963>
- Ji, N., Wang, M., & Tan, C. (2023). Liposomal Delivery of MIW815 (ADU-S100) for Potentiated STING Activation. *Pharmaceutics*, 15(2), 638.  
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020638>
- Jiao, H., Wachsmuth, L., Kumari, S., Schwarzer, R., Lin, J., Eren, R. O., Fisher, A., Lane, R., Young, G. R., Kassiotis, G., Kaiser, W. J., & Pasparakis, M. (2020). Z-nucleic acid sensing triggers ZBP1-dependent necroptosis and inflammation. *Nature*, 580(7803), 391.  
<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2129-8>
- Keserci, B., Muslumanoglu, M. H., & Nadarajan, C. (2025). *Current Challenges in Cancer Therapy: A Biophysical Perspective on Electric Field-Based Strategies*.  
<https://papers.ssrn.com/abstract=5175588>
- Koerner, L., Wachsmuth, L., Kumari, S., Schwarzer, R., Wagner, T., Jiao, H., & Pasparakis, M. (2024). ZBP1 causes inflammation by inducing RIPK3-mediated necroptosis and RIPK1 kinase activity-independent apoptosis. *Cell Death & Differentiation* 2024 31:7, 31(7), 938–953.  
<https://doi.org/10.1038/s41418-024-01321-6>
- Konno, H., Yamauchi, S., Berglund, A., Putney, R. M., Mulé, J. J., & Barber, G. N. (2018). Suppression of STING Signaling through Epigenetic Silencing and Missense Mutation Impedes DNA-Damage Mediated Cytokine

- Production. *Oncogene*, 37(15), 2037.  
<https://doi.org/10.1038/s41388-017-0120-0>
- Li, H., Sun, X., Zhao, Y., Zhang, C., Jiang, K., Ren, J., Xing, L., & He, M. (2023). Pan-cancer analysis of TASL: a novel immune infiltration-related biomarker for tumor prognosis and immunotherapy response prediction. *BMC Cancer* 2023 23:1, 23(1), 528-.  
<https://doi.org/10.1186/s12885-023-11015-w>
- Liu, X., Hogg, G. D., Zuo, C., Borcharding, N. C., Baer, J. M., Lander, V. E., Kang, L. I., Knolhoff, B. L., Ahmad, F., Osterhout, R. E., Galkin, A. V., Bruey, J. M., Carter, L. L., Mpoy, C., Vij, K. R., Fields, R. C., Schwarz, J. K., Park, H., Gupta, V., & DeNardo, D. G. (2023). Context-dependent activation of STING-interferon signaling by CD11b agonists enhances anti-tumor immunity. *Cancer Cell*, 41(6), 1073.  
<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2023.04.018>
- Lu, Q., Chen, Y., Li, J., Zhu, F., & Zheng, Z. (2023). Crosstalk between cGAS-STING pathway and autophagy in cancer immunity. *Frontiers in Immunology*, 14, 1139595.  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1139595>
- Luo, K., Li, N., Ye, W., Gao, H., Luo, X., & Cheng, B. (2022). Activation of Stimulation of Interferon Genes (STING) Signal and Cancer Immunotherapy. *Molecules* 2022, Vol. 27, Page 4638, 27(14), 4638.  
<https://doi.org/10.3390/molecules27144638>
- Marcut, L., Brata, R. D., Barb, A. C., Manole, A., Stef, D. G., Dumitru, C. S., Zara, F., & Patrascu, R. (2025). Targeting DNA Damage Response and Immune Crosstalk in Cancer: Mechanistic Insights and Therapeutic Opportunities. *International Journal of Molecular*

*Sciences* 2025, Vol. 26, Page 11271, 26(23), 11271.  
<https://doi.org/10.3390/ijms262311271>

- Meric-Bernstam, F., Sweis, R. F., Hodi, F. S., Messersmith, W. A., Andtbacka, R. H. I., Ingham, M., Lewis, N., Chen, X., Pelletier, M., Chen, X., Wu, J., McWhirter, S. M., Müller, T., Nair, N., & Luke, J. J. (2022). Phase I Dose-Escalation Trial of MIW815 (ADU-S100), an Intratumoral STING Agonist, in Patients with Advanced/Metastatic Solid Tumors or Lymphomas. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 28(4), 677–688. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-21-1963>
- Meric-Bernstam, F., Sweis, R. F., Kasper, S., Hamid, O., Bhatia, S., Dummer, R., Stradella, A., Long, G. V., Spreafico, A., Shimizu, T., Steeghs, N., Luke, J. J., McWhirter, S. M., Müller, T., Nair, N., Lewis, N., Chen, X., Bean, A., Kattenhorn, L., ... Sandhu, S. (2023). Combination of the STING Agonist MIW815 (ADU-S100) and PD-1 Inhibitor Spartalizumab in Advanced/Metastatic Solid Tumors or Lymphomas: An Open-Label, Multicenter, Phase Ib Study. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 29(1), 110. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-22-2235>
- Minn, A. J. (2015). Interferons and the Immunogenic Effects of Cancer Therapy. *Trends in Immunology*, 36(11), 725–737. <https://doi.org/10.1016/j.it.2015.09.007>
- Mo, W., & Han, J. (2021). ZBP1, a dsRNA Sensor for Cell Death and Inflammation. *Journal of Cellular Signaling*,; Volume 2(Issue 4):242-247, Volume 2(Issue 4), 242–247. <https://doi.org/10.33696/signaling.2.057>

- Monguió-Tortajada, M. (2026). The SLC15A4/TASL/IRF5 axis role in the immunopathogenesis of IBD and associated cancer. *Journal of Crohn's and Colitis*, 20(Supplement\_1). <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjaf231.1597>
- Mosallanejad, K., & Kagan, J. C. (2022). Control of innate immunity by the cGAS-STING pathway. *Immunology and Cell Biology*, 100(6), 409. <https://doi.org/10.1111/imcb.12555>
- Seok, J. K., Kim, M., Kang, H. C., Cho, Y. Y., Lee, H. S., & Lee, J. Y. (2023). Beyond DNA sensing: expanding the role of cGAS/STING in immunity and diseases. *Archives of Pharmacal Research* 2023 46:6, 46(6), 500–534. <https://doi.org/10.1007/s12272-023-01452-3>
- Shi, J., Zhang, Y., Zhao, N., Seki, E., Ma, L., Kocic, G., Li, X., Terzić, J., & Zheng, T. (2025). Precision targeting of STING: Challenges, innovations, and clinical outlook for cancer therapy. *The Innovation*, 7(1), 101074. <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2025.101074>
- Su, T., Zhang, Y., Valerie, K., Wang, X. Y., Lin, S., & Zhu, G. (2019). STING activation in cancer immunotherapy. *Theranostics*, 9(25), 7759. <https://doi.org/10.7150/thno.37574>
- Sun, L., Wu, J., Du, F., Chen, X., & Chen, Z. J. (2013). Cyclic GMP-AMP synthase is a cytosolic DNA sensor that activates the type I interferon pathway. *Science (New York, N.Y.)*, 339(6121), 786–791. <https://doi.org/10.1126/science.1232458>
- Taffoni, C., Schüssler, M., Vila, I. K., & Laguette, N. (2023). Harnessing the cooperation between DNA-PK and cGAS in cancer therapies: The cooperation between DNA-PK

- and cGAS shapes tumour immunogenicity. *BioEssays : News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*, 45(7).  
<https://doi.org/10.1002/bies.202300045>
- Tanaka, Y., & Chen, Z. J. (2012). STING specifies IRF3 phosphorylation by TBK1 in the cytosolic DNA signaling pathway. *Science Signaling*, 5(214).  
<https://doi.org/10.1126/scisignal.2002521>
- Wang, B., Yu, W., Jiang, H., Meng, X., Tang, D., & Liu, D. (2024). Clinical applications of STING agonists in cancer immunotherapy: current progress and future prospects. *Frontiers in Immunology*, 15, 1485546.  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1485546>
- Wang, L., Zhu, S., Ding, Z., Hong, J., Zheng, L., Sun, J., Tang, Y., Chen, X., Yong, X., Hu, M., Jiang, Z., Liu, Y., Wang, D., & Tang, H. (2026). Cell-type specific activation of the cGAS-STING pathway in tumor immunotherapy: mechanisms and therapeutic implications. *Journal of Translational Medicine*, 24(1), 43.  
<https://doi.org/10.1186/s12967-025-07645-2>
- Wang, Q., Yu, Y., Zhuang, J., Liu, R., & Sun, C. (2025). Demystifying the cGAS-STING pathway: precision regulation in the tumor immune microenvironment. *Molecular Cancer*, 24(1), 178.  
<https://doi.org/10.1186/s12943-025-02380-0>
- Wang-Bishop, L., Wehbe, M., Shae, D., James, J., Hacker, B. C., Garland, K., Chistov, P. P., Rafat, M., Balko, J. M., & Wilson, J. T. (2020). Potent STING activation stimulates immunogenic cell death to enhance antitumor immunity in neuroblastoma. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 8(1), e000282. <https://doi.org/10.1136/jitc-2019-000282>

- Woo, S. R., Fuertes, M. B., Corrales, L., Spranger, S., Furdyna, M. J., Leung, M. Y. K., Duggan, R., Wang, Y., Barber, G. N., Fitzgerald, K. A., Alegre, M. L., & Gajewski, T. F. (2014). STING-dependent cytosolic DNA sensing mediates innate immune recognition of immunogenic tumors. *Immunity*, 41(5), 830–842. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.10.017>
- Xia, T., Konno, H., & Barber, G. N. (2016). Recurrent Loss of STING Signaling in Melanoma Correlates with Susceptibility to Viral Oncolysis. *Cancer Research*, 76(22), 6747–6759. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-1404>
- Yue, B., Gao, W., Lovell, J. F., Jin, H., & Huang, J. (2025). The cGAS-STING pathway in cancer immunity: dual roles, therapeutic strategies, and clinical challenges. *Essays in Biochemistry*, 69(2), EBC20253006. <https://doi.org/10.1042/EBC20253006>
- Zhan, J., Wang, J., Liang, Y., Wang, L., Huang, L., Liu, S., Zeng, X., Zeng, E., & Wang, H. (2024). Apoptosis dysfunction: unravelling the interplay between ZBP1 activation and viral invasion in innate immune responses. *Cell Communication and Signaling: CCS*, 22(1), 149. <https://doi.org/10.1186/s12964-024-01531-y>
- Zhang, H., Bernaleau, L., Delacrétaz, M., Hasanovic, E., Drobek, A., Eibel, H., & Rebsamen, M. (2023). SLC15A4 controls endolysosomal TLR7–9 responses by recruiting the innate immune adaptor TASL. *Cell Reports*, 42(8), 112916. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112916>
- Zhao, H., Wu, L., Yan, G., Chen, Y., Zhou, M., Wu, Y., & Li, Y. (2021). Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. *Signal Transduction*

*and Targeted Therapy*, 6(1), 263.  
<https://doi.org/10.1038/s41392-021-00658-5>

Zheng, M., & Kanneganti, T. D. (2020a). The regulation of the ZBP1-NLRP3 inflammasome and its implications in pyroptosis, apoptosis, and necroptosis (PANoptosis). *Immunological Reviews*, 297(1), 26–38.  
<https://doi.org/10.1111/imr.12909>

Zheng, M., & Kanneganti, T.-D. (2020b). Newly Identified Function of Caspase-6 in ZBP1-mediated Innate Immune Responses, NLRP<sub>3</sub> Inflammasome Activation, PANoptosis, and Host Defense. *Journal of Cellular Immunology*,; Volume 2(Issue 6):341-347, Volume 2(Issue 6), 341–347.  
<https://doi.org/10.33696/immunology.2.064>

Zhong, L., Li, Y., Xiong, L., Wang, W., Wu, M., Yuan, T., Yang, W., Tian, C., Miao, Z., Wang, T., & Yang, S. (2021). Small molecules in targeted cancer therapy: advances, challenges, and future perspectives. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2021 6:1, 6(1), 201-.  
<https://doi.org/10.1038/s41392-021-00572-w>

Zhou, J., Yang, Y., Fang, Y., Du, X., Ying, Z., & Rao, C. (2025). Targeting cGAS-STING signaling and cell death modes in cancer and autoimmune diseases. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 85(5622), 56–80.  
<https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2025.07.004>

# **EPIGENETİK BİYOBELİRTEÇLER VE KLİNİK KULLANIM POTANSİYELİ**

**Rabia ÜNAL<sup>1</sup>**

**Özge ŞÜKRÜOĞLU ERDOĞAN<sup>2</sup>**

## **1. GİRİŞ**

Kanser, küresel düzeyde mortalite nedenleri arasında üst sıralarda olan karmaşık bir hastalık grubudur. Kanser gelişiminde genetik analizlere ek olarak epigenetik analiz yöntemlerini kullanmak hastalığa erken evrede tanı koymak açısından kritik rol oynar. Epigenetik değişikliklerin erken dönemde tespit edilmesi, hastalığın prognozunun değerlendirilmesi ve tedavi stratejilerinin belirlenmesi açısından da öneme sahiptir.

DNA dizisinde herhangi bir değişiklik meydana gelmeden gen ekspresyonunun düzenlenmesini sağlayan mekanizmalar epigenetik olarak tanımlanmaktadır. Genin susturulmasını düzenleyen bu mekanizma, genin işlevine etki ettiği için hücrel farklılaşma, gelişim süreçleri ve hastalıkların, özellikle de kanserin patogeneğinde önemli rol almaktadır (Cheedipudi, Genolet, & Dobрева, 2014). Genetik mutasyonların aksine, epigenetik değişiklikler dinamiktir ve çoğu zaman geri döndürülebilir.

Epigenetik değişikliklerin oluşmasında genetik yatkınlıkların yanı sıra çevresel faktörler de etkilidir. Özellikle sigara kullanımı, beslenme bozuklukları, alkol tüketimi ve

---

<sup>1</sup> İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kanser Genetiği Y.L PR, İstanbul, Türkiye, ORCID: 0009-0002-6280-121X.

<sup>2</sup> Dr. Öğr. Üyesi İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Kanser Genetiği Bilimdalı, İstanbul, Türkiye, ORCID: 0000-0002-0893-1251.

kimyasal maddelere maruziyet gibi faktörler epigenom üzerinde kalıcı veya geçici değişikliklere neden olabilmektedir. (Alegria-Torres, Baccarelli, & Bollati, 2011). Bununla birlikte, sigara maruziyetine bağlı epigenetik değişiklikler, sigaranın bırakılması sonrasında kısmen geri döndürülebilmektedir (Dugue et al., 2020). Bu durum epigenetik düzenlemelerin çevresel faktörlerle etkileşim içinde şekillenebildiğini ortaya koymaktadır.

Gen ekspresyonunun epigenetik düzeyde düzenlenmesinde çeşitli moleküler mekanizmalar rol oynamaktadır. Bu mekanizmaların başlıcaları DNA metilasyonu, histon modifikasyonları, kodlayıcı olmayan RNA'lar (non-coding RNA, ncRNA) ve kromatin yeniden düzenlenmesidir. DNA metilasyonu genellikle promotör bölgelerinde meydana gelen metilasyon değişiklikleri aracılığıyla gen susturulmasına yol açmaktadır. Histon modifikasyonları kromatin yapısının yoğunluğunu değiştirerek genlerin transkripsiyonel aktivitesini etkiler. Tıpkı DNA metilasyonu gibi, DNA dizisinde değişiklik olmadan gen ifadesinde düzenleme yaparlar. Histon DNA'ya bağlanabilen pozitif yüklü bir proteindir ve nükleozom yapısının temel bileşenidir. Histon proteinlerinin kuyruk kısımlarında asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon ve ubiquitinasyon gibi modifikasyonlar meydana gelir ve bu yapısal değişiklikler genin ekspresyonunun baskılanmasında veya aktivasyonunda belirleyici rol oynarlar (Sadida et al., 2024).

Buna ek olarak ncRNA'lar gen ekspresyonunu hem transkripsiyonel hem de post-transkripsiyonel düzeyde düzenleyebilirken, kromatin yeniden düzenleme mekanizmaları nükleozomların konumunu değiştirerek DNA'nın transkripsiyon faktörleri tarafından erişilebilirliğini kontrol etmektedir. Bu mekanizmalar birbirleriyle etkileşim içinde çalışarak gen ekspresyonunun hücreSEL düzeyde hassas biçimde düzenlenmesini sağlar.

DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları gibi epigenoma etki eden diğer modifikasyonlar kodlayıcı olmayan RNA (non-coding RNA, ncRNA)'dır. Kodlayıcı olmayan RNA, protein kodlamadan gen ekspresyonunu epigenetik düzeylerde düzenleyen RNA molekülleridir. Özellikle mikroRNA'lar (miRNA), yaklaşık 18–25 nükleotid uzunluğunda kısa RNA molekülleri olup hedef mRNA'ya bağlanarak gen ekspresyonunu baskırlar (Fu et al., 2021). Uzun kodlayıcı olmayan RNA'lar (lncRNA) ise 200'den fazla nükleotidin üzerinde uzunluğa sahip olup kromatin yapısının düzenlenmesi ve kontrol süreçlerinde rol almaktadırlar (J. Lin, Chen, & Zhang, 2024). Kanser dâhil birçok hastalıkta bu moleküllerin ekspresyonlarının bozulması, hücrel süreçlerin dengesini etkileyerek tümör gelişimine katkıda bulunabilmektedir.

Epigenetik mekanizmaların dinamik özellik göstermesi, bu değişiklikleri klinik açıdan özellikle değerli kılmaktadır. DNA metilasyonu, histon modifikasyon profilleri ve kodlayıcı olmayan RNA ekspresyon düzeyleri; erken tanı, prognoz belirleme ve tedavi planlanmasında potansiyel biyobelirteçler olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle epigenetik değişikliklerin moleküler düzeyde anlaşılması, kanserde hem tanısal hem de tedaviye yönelik yaklaşımların geliştirilmesine önemli katkı sağlamaktadır.

**Tablo 1. Kanserde başlıca epigenetik mekanizmalar ve klinik uygulama alanları**

Mekanizma	Temel işlevi	Kanserde Rolü	Klinik Uygulama
DNA Metilasyonu	CpG adalarında metilasyon	Tümör baskılayıcı gen susturulması, onkogen aktivasyonu	<i>MGMT</i> promotör metilasyonu – Glioblastoma <i>SEPT9</i> metilasyonu – Kolorektal kanser <i>GSTP1</i> promotör metilasyonu – Prostat kanseri

			<i>MLH1</i> promotör metilasyonu – Kolorektal kanser
Histon Modifikasyonu	Asetilasyon Metilasyon Fosforilasyon Ubiquitinasyon	Kromatin yoğunluğu ve gen ekspresyonu düzenlenmesi	HDAC inhibitörleri
Non-Coding RNA	Gen ekspresyonunu post-transkripsiyonel kontrol	Tümör progresyonu ve metastaz	Potansiyel biyobelirteç
Kromatin Yeniden Düzenleme	Nükleozom kaydırma ve DNA erişilebilirliği	Gen ekspresyon profili değişimi	Hedeflenebilir epigenetik düzenleyiciler ve tedavi yanıtının belirlenmesi

## 2. DNA METİLYASYONU

DNA metilasyonu, ökaryotik genomda epigenetik düzenlemenin temel ve en stabil mekanizmalarından biridir. Klinik onkoloji alanında hastalığa özgü tanı ve tedavi kararlarını belirlemede önemli bir epigenetik modifikasyondur. Özellikle tümör baskılayıcı genlerin promotör bölgelerinde ortaya çıkan hipermetilasyon, gen susturulması ile sonuçlanarak kanser gelişim sürecine katkıda bulunabilmektedir (M. C. Liu et al., 2020). Buna karşılık, genom genelinde gözlenen hipometilasyon ise kromozomal instabiliteye ve onkogen aktivasyonuna zemin hazırlayabilmektedir (McCabe, Brandes, & Vertino, 2009). Bu çift yönlü etki, DNA metilasyonunun kanser biyolojisindeki kritik rolünü ortaya koymaktadır.

### 2.1. DNA Metiltransferaz Ailesi

DNA metilasyonu, DNA metiltransferaz (*DNMT*) enzim ailesi tarafından katalizlenerek oluşmaktadır. Memelilerde üç tip *DNMT* vardır:

- ***DNMT1***: DNA replikasyonu sırasında DNA metilasyonunun dengesinin sürdürülmesini sağlayan ve

memelilerde en yaygın bulunan DNA metiltransferans enzimlerinden biridir (Y. Liu et al., 2024). *DNMT1*'in ekspresyonunda artış veya bozukluklar, tümör baskılayıcı genlerin promotör bölgelerinde anormal metilasyon paternlerinin oluşmasına ve böylece genomik instabiliteye yol açarak kanser gelişimine katkı sağlayabileceği ve bazı tümörlerde artmış ekspresyon göstermesi sebebiyle potansiyel bir terapötik hedef olabileceği düşünülmektedir (Takeshita et al., 2011).

- ***DNMT3A ve 3B***: *DNMT3A* ve *DNMT3B*, *de novo* DNA metilasyonlarının oluşturulmasında görevli önemli DNA metiltransferaz enzimleridir. *DNMT3A* epigenetik düzenlemede rol oynar ve çeşitli kanser tiplerinde gen ekspresyon değişiklikleri ile ilişkili olabileceği düşünülen bir enzimdir (Wei, Kou, Luo, & Cheng, 2025). *DNMT3B* ise embriyonik gelişim süreçlerinde yeni metilasyon bölgelerinin oluşumunda görev alarak özellikle heterokromatin bölgelerinin metilasyonunda kritik rol oynamaktadır (Gao et al., 2022).
- ***DNMT3L***: *DNMT3L*, katalitik aktivitesi olmayan bir DNA metiltransferaz benzeri protein olup, genomik metilasyonun düzenlenmesinde *DNMT3A* ve *DNMT3B*'nin *de novo* metilasyon aktivitesini destek rolünde bir proteindir (Huang et al., 2024).

## 2.2. DNA Metilasyon Mekanizmaları

DNA metilasyon mekanizmaları, epigenetik düzenlemenin temel bileşenlerinden biri olup gen ekspresyonunun kontrolünde önemli rol oynamaktadır. Özellikle CpG adacığı bölgelerinde gerçekleşen metilasyon değişiklikleri, genlerin transkripsiyonel aktivitesini doğrudan etkiler ve bu sayede hücresel fonksiyonların düzenlenmesini sağlamaktadır (Chu, Ngo, & Wu, 2023). Bu mekanizmalar, genomik stabilitenin

korunması ve hastalık patogenezinin anlaşılması açısından da önemli biyolojik süreçler arasında yer almaktadır. DNA metilasyonu, CpG adacığı ismi verilen CpG dinükleotid bölgelerinde gerçekleşmektedir ve Sitozin bazının metillenmesi sonucunda 5-metilsitozin oluşumu ile karakterizedir. Bu süreçte DNA metiltransferaz (*DNMT*) enzimleri çoğunlukla CpG dinükleotid bölgelerinde bulunan sitozin kalıntılarına metil grubu eklenmektedir. CpG adaları, DNA'da CpG dinükleotidlerinin yoğun olduğu ve çoğunlukla genlerin promotör bölgelerinde bulunan kısa genomik dizilerdir (Hughes et al., 2023). Bu bölgelerdeki metilasyon durumu genin ekspresyonunun aktif ya da baskılanmış olmasını belirleyebilmektedir. Özellikle promotör bölgesinde meydana gelen hipermetilasyon gen susturulmasına yol açarken, hipometilasyon ise gen ekspresyonunun artışı ile ilişkili olabilmektedir (Berdasco & Esteller, 2019).

DNA metilasyonu temel olarak iki ana mekanizma ile düzenlenmektedir:

- ***De novo* metilasyon:** *DNMT3A* ve *DNMT3B* enzimlerinin daha önce metillenmemiş DNA bölgelerine yeni metil grupları ekleyerek hücrede yeni bir epigenetik düzenin oluşmasını sağladığı bir süreçtir ve özellikle embriyonik gelişim ile hücreSEL farklılaşma aşamalarında metilasyon paternlerinin oluşturulmasında önemli rol oynamaktadır (Zocher et al., 2021).
- **Replikasyon Aracılıklı (Maintenance) Metilasyon:** Hücre bölünmesi sırasında oluşan yarı metillenmiş CpG bölgelerinin *DNMT1* tarafından yeniden metillenmesi ve böylece mevcut metilasyon deseninin yeni sentezlenen DNA zinciri üzerinde korunmasını kontrol eden mekanizmadır (Ren, Gao, & Song, 2018). Epigenetik bilginin nesiller boyunca aktarılmasını sağlayarak

genomik stabilitenin sürdürülmesine katkıda bulunmaktadır.

### **2.3. Global Hipometilasyon**

Epigenetik mekanizmaların sebep olduğu kanser hücrelerine bakıldığında, en belirgin ve dikkat çekici bulgulardan biri genom genelinde görülen global DNA hipometilasyonu ile genlerin promotör bölgelerinde görülen hipermetilasyonun birlikte ortaya çıkmasıdır. Global hipometilasyon, genom genelinde görülen, ancak çoğunlukla tekrarlayan DNA dizileri, satelit bölgeler gibi alanlarda daha belirgin bir şekilde DNA metilasyonunun azalması olayıdır. Karsinogenez sürecinde ortaya çıkar ve bu durum genomik instabiliteyi artırdığı için tümör gelişimine sebep olmaktadır (Boldrin et al., 2025).

Bu nedenle global DNA hipometilasyon, kanser hücrelerinde rastlantısal bir değişiklik olarak değil, tümör gelişimi ve progresyonuna katkı sağlayan önemli bir epigenetik mekanizma olarak değerlendirilmektedir.

### **2.4. Promotör Hipermetilasyonu**

DNA metilasyon paternlerindeki bir diğer önemli değişiklik ise tümör baskılayıcı genlerin promotör bölgelerinde bulunan CpG adalarına aşırı metil grubu eklenerek hipermetile olması durumudur ve bunun sonucunda genin transkripsiyonu susturulmuş olur (Wen, Deng, Bi, Qiao, & Xu, 2023). Sağlıklı hücrelerde tümör baskılayıcı genlerin promotrlerindeki CpG adaları metilsiz olduğu için genler aktiftir, ancak kanserde artan *DNMT* aktivitesi ile bu bölgelerin hipermetillenmesine neden olarak kromatini yoğunlaştırır ve böylelikle genin ekspresyonunu baskılar (Baylin & Jones, 2016).

### **2.5. DNA Metilasyonun Klinik Kullanımı**

DNA metilasyonu, kanserde tanısal, prognostik ve prediktif bir biyobelirteç olarak klinik uygulamaya en fazla

entegre edilmiş ve en iyi gözlenen epigenetik mekanizmadır. Metilasyon değişikliklerinin tümör gelişiminin erken evrelerinde ortaya çıkabilmesi, bu mekanizmayı anlamak ve hastalığı klinik olarak yönetebilmek açısından güçlü kılmaktadır. Günümüzde epigenetik tedaviler arasında DNA metiltransferaz inhibitörleri (azasitidin, desitabin) ve histon deasetilaz inhibitörleri (vorinostat, romidepsin) bazı hematolojik malignitelerde klinik kullanımda yer almaktadır (Michael & Mehdipour, 2026).

Son yıllarda epigenetik biyobelirteçlerin klinik uygulamadaki rolü giderek artmaktadır. Özellikle DNA metilasyon paternleri, kanser gelişiminin erken evrelerinde ortaya çıkabilmeleri ve dolaşımdaki hücre dışı DNA'da (cfDNA) tespit edilebilmeleri nedeniyle tanı, prognoz ve tedavi yanıtının değerlendirilmesinde önemli moleküler araçlar olarak değerlendirilmektedir. Günümüzde epigenetik temelli biyobelirteçler, kanserin erken tanısı, hastalık progresyonunun izlenmesi ve tedavi yanıtının öngörülmesi amacıyla klinik araştırmalarda yoğun şekilde incelenmektedir. Özellikle sıvı biyopsi yaklaşımları ile analiz edilen DNA metilasyon imzalarının, minimal invaziv yöntemlerle tümör heterojenitesini yansıtabilmesi ve hastalığın dinamik olarak izlenmesine olanak sağlaması klinik açıdan önemli avantajlar sunmaktadır (Leung, Chiu, & Taneja, 2025; Tsui, Jiang, & Lo, 2025). Bununla birlikte epigenetik biyobelirteçlerin yalnızca tanısal amaçlarla değil, aynı zamanda hastaların risk sınıflandırması, prognoz değerlendirmesi ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin belirlenmesinde de potansiyel bir rol oynadığı bildirilmektedir (Zhou & Shen, 2025) (Zhang et al., 2025). Son dönemde yapılan çalışmalar, DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve kodlayıcı olmayan RNA'lara dayalı epigenetik imzaların, klinik karar süreçlerinde kullanılabilecek güvenilir biyobelirteçler geliştirilmesine katkı sağlayabileceğini ve bu alandaki translayonel araştırmaların hızla arttığını göstermektedir.

DNA metilasyonunun klinik kullanımı üç ana başlık altında değerlendirilebilir:

- **Tanısal Biyobelirteç Olarak DNA Metilasyonu:** Epigenetik değişikliklerin genomik mutasyonlara kıyasla daha erken ortaya çıkabilmesi, tanısal süreçlerde metilasyon analizlerinin değerini artırmaktadır. Özellikle dolaşımdaki tümör DNA'sında saptanan metilasyon paternleri, basit ve invaziv olmayan tarama stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlamaktadır.

Tanıda kullanıma örnek olarak *SEPT9* metilasyonu ön plana çıkmaktadır. Bu epigenetik değişiklik, özellikle kolorektal kanser taramasında dolaşımdaki tümör DNA'sının analiz edildiği sıvı biyopsi testi ile değerlendirilmektedir (Muller & Gyorffy, 2022). *SEPT9* metilasyonu hastalığın prognozunda aktif rol oynayan bir epigenetik biyobelirteçtir ve kolorektal kanserde metastazı da yöneten bir moleküldür (Bai, Wang, Yang, Xiang, & Liu, 2024).

- **Prediktif Biyobelirteç Olarak DNA Metilasyonu:** DNA metilasyonu klinik kullanımda tedavi yanıtını öngörmede kullanılmaktadır.

En bilinen örnek olarak Glioblastoma hastalarında tedavi yanıtının öngörülmesinde kullanılan alkilleyici ajan olan Temozolomid etkinliğini değerlendirmek amacıyla *MGMT* promotör hipermetilasyonu analiz edilmektedir. *MGMT* promotör hipermetilasyonu, *MGMT* ekspresyonunun azalmasına ve DNA hasarlarının onarımının bozulmasına yol açarak kemoterapiye karşı duyarlılığı artırmaktadır (Brandner et al., 2021).

*BRCA1* geninde promotör metilasyonu ise kemoterapi alan hastalarda hastalığın doğal seyrini etkilemez; ancak DNA hasarı oluşturan kemoterapilere yanıtı belirgin biçimde öngören

güçlü bir prediktif biyobelirteç olarak işlev görür (Stefansson et al., 2020).

- **Prognostik Biyobelirteç Olarak DNA Metilasyonu:** *BRCA1* promotör metilasyonu, sporadik gelişen üçlü negatif meme kanserinde (Triple Negatif Meme Kanser-TNBC) prognostik biyobelirteç olarak ortaya çıkmaktadır. Metilasyon analizi pozitif hastalarda hem genel hem de hastalısız sağkalım belirgin şekilde azalmakta ve ölüm oranları anlamlı olarak artmaktadır. Bu da metilasyonun prognoz tahmini için değerli bir epigenetik belirteç olduğunu göstermektedir (Zhu et al., 2015).

## **2.6. Sıvı Biyopsi**

Sıvı biyopsi, kanserde tümöre herhangi bir invaziv müdahalede bulunmaksızın periferik kandan elde edilen biyolojik materyaller aracılığıyla tümöre özgü genetik ve epigenetik değişikliklerin analiz edilmesine dayanan invaziv olmayan tanı yöntemidir. Bu sayede biyopsi ile ilişkili komplikasyon riskini ortadan kaldırırken, erken evrelerde dahi dolaşımdaki tümör DNA'sının tespit edilmesine olanak sağlayabilmektedir. Özellikle promotör metilasyon analizlerinin yüksek özgüllük göstermesi, sıvı biyopsinin tanısız performansını artırır önemli bir avantajdır. Sıvı biyopsi testleri, geleneksel tanı yöntemlerinin yerini almaktan ziyade, tanı, prognostik değerlendirme ve tedavi yanıtı izlemede tamamlayıcı ve destekleyici bir test yöntemi olarak kullanılmaktadır (Shen et al., 2022). Örnek olarak; Prostat kanseri için yapılan PSA testine ek olarak yapılan sıvı biyopsi testi, PSA testinin yerine geçmek için değil tamamlayıcı niteliğinde kullanılmaktadır (Han et al., 2025).

Bu özellikleri ile DNA metilasyonu, kanserde moleküler düzeyde hastalık yönetimini destekleyen ve klinik onkolojide

katkı sağlayabilen önemli bir epigenetik hedef olarak değerlendirilmektedir.

### **3. HİSTON MODİFİKASYONLARI**

Ökaryotik hücrelerde DNA histon proteinlerine sıkı bir şekilde sarılı paketler halinde bulunurlar. Kromatinin temel fonksiyonel birimi olan nükleozom yaklaşık 147 baz çifti DNA'nın histon oktameri etrafına sarılmasıyla oluşmaktadır. Histon oktameri iki adet H2A, H2B, H3 ve H4 histon proteinlerinden meydana gelmektedir. Histon H1 ise bağlayıcı rol oynar ve DNA stabilitesinden sorumludur(Bartova, Krejci, Harnicarova, Galiova, & Kozubek, 2008). Histon proteinlerinin N terminal kuyruklarında asetil, metil, fosfat ve ubiquitin gibi kimyasalların eklenmesiyle veya çıkarılmasıyla meydana gelen değişiklikler genin ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır ve bu epigenetik mekanizma DNA dizisini değiştirmeden gen ifadesini düzenler (Y. Wang, Huang, Chen, & Weng, 2024).

Histon modifikasyonlarındaki değişiklikler kanserin gelişimi sürecinde rol almaktadır. Kromatin yapısındaki düzensizlikler tümör baskılayıcı genlerin ve onkogenlerin susturulmasına ya da aşırı ekspresyonuna yol açar. Bunun sonucunda hücrel proliferasyonun kontrolsüz şekilde artmasına ve tümör progresyonunun hızlanmasına zemin hazırlayabilmektedir (Yang, Zhang, & Wang, 2022).

#### **3.1. Histon Asetilasyonu ve Deasetilasyonu**

Histon asetilasyonu, kromatin yapısının düzenlenmesinde rol oynayan önemli epigenetik mekanizmalardan biridir ve gen ekspresyonunun aktivasyonu ile ilişkilidir. Histon H3 ve H4 proteinlerinin kuyruk bölgelerindeki lizin kalıntılarının asetillenmesi, histonların pozitif yükünü azaltarak DNA ile histon

arasındaki etkileşimi zayıflatır ve kromatin yapısının gevşemesine neden olur. Bu durum, gen transkripsiyon mekanizmasının DNA'ya daha kolay erişimini sağlayarak gen ekspresyonunun artmasına katkıda bulunur (Y. Lin et al., 2023).

Histon deasetilasyonu ise histon kuyruk bölgelerinde bulunan asetil gruplarının uzaklaştırılmasıyla gerçekleşen ve gen ekspresyonunun baskılanması ile sonuçlanan bir epigenetik düzenleme mekanizmasıdır. Histon deasetilaz enzimleri tarafından yürütülen bu süreç, kromatin yapısının yoğunlaşmasına ve transkripsiyon faktörlerinin DNA'ya erişiminin azalmasına yol açmaktadır. Deasetilasyon mekanizması, DNA metilasyonu gibi diğer epigenetik süreçlerle de etkileşim içerisinde çalışarak gen susturulmasını destekleyebilmektedir (Allis & Jenuwein, 2016).

### **3.2. Histon Metilasyonu**

Histon proteinlerinin bazı aminoasit parçalarına metil gruplarının eklenmesi ile gerçekleşen epigenetik mekanizmaya histon metilasyonu denir ve bu modifikasyon özellikle lizin ile arjinin aminoasitlerinin kalıntılarında görülerek kromatin yapısını etkiler. Bu sayede genin ekspresyonu düzenlenmesinde rol almış olur. Ancak yalnızca kromatini değil metillenmiş histonları bilen proteinlerinde bağlanmasına yardımcı olduğu için genin transkripsiyonunun düzenlenmesinde de katkıda bulunmuş olur (Greer & Shi, 2012).

### **3.3. Histon Fosforilasyonu**

Translasyon sonrası gerçekleşen ve histon proteinlerinin serin, tirozine ve treonin kalıntılarına fosfat grubunun eklenmesiyle oluşan epigenetik modifikasyona denir. Bu epigenetik mekanizma kromatin yapısını düzenler ve DNA onarımı, gen transkripsiyonu gibi süreçlerde de görev alır (Rossetto, Avvakumov, & Cote, 2012).

### **3.4. Histon Ubiquitinasyon**

Histon proteinlerine ubiquitin isimli proteinin kovalent bir şekilde eklenmesi sonucu gelişen translasyon sonrası gelişen ve histon H2A ve H2B'nin belirli lizin kalıntılarına tek bir ubiquitin molekülünün eklenmesi ile meydana gelen epigenetik mekanizmadır. E1, E2 ve E3 enzimleri aracılık eder. Histon ubiquitinasyonu, DNA hasar yanıtında ve gen transkripsiyonunda görev alır ve bu da bu modifikasyonu önemli kılmaktadır (Cao & Yan, 2012).

### **3.5. Histon Modifikasyonlarının Klinik Önemi**

Histon modifikasyonları, özellikle asetilasyon ve deasetilasyon arasındaki dengenin düzenlenmesi ile gen ekspresyonunun epigenetik kontrolünde önemli rol almaktadır. Bu mekanizmaların bozulması, başta kanser olmak üzere birçok hastalığın gelişiminde kritik bir yer tutmaktadır. Bu nedenle histon modifikasyonlarını hedefleyen epigenetik tedavi yaklaşımları klinik kullanımda oldukça önemlidir. Özellikle histon deasetilaz inhibitörleri (HDAC inhibitörleri), asetilasyon düzeylerini düzenleyerek baskılanmış olan genlerin yeniden ekspresyonunu sağlayabilmekte ve çeşitli hastalıklarda tedavi kararlarında yön göstermektedir (Shanmukha, Paluvai, Lomada, Gokara, & Kalangi, 2023). Bununla birlikte histon modifikasyonlarının yalnızca kanser tedavisinde değil, inflamasyon ve farklı patolojik süreçlerde de etkili olabilmektedir (Y. Wang, Jiao, Hu, & Wang, 2024). Bu sayede histon modifikasyonlarının hastalık mekanizmalarının anlaşılmasının yanı sıra yeni tedavi hedeflerin geliştirilmesi açısından da önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

#### **4. KODLAMA YAPMAYAN RNA'LAR (Non-Coding RNA- ncRNA)**

Kodlayıcı olmayan RNA'lar (ncRNA), protein kodlamayan ancak genin transkripsiyonel aktivitesini düzenleyen RNA molekülleridir. İnsan genomunun büyük çoğunluğu protein kodlamamasına rağmen, transkripsiyonel aktif olup farklı özelliklere sahip ncRNA'ların oluşmasına sebep olmaktadır. Bu moleküller, hücresel proliferasyonu, farklılaşması, apoptoz, hücre döngüsü kontrolü ve DNA onarımı gibi önemli temel biyolojik süreçlerde rol oynamakta ve epigenetik düzenlemenin kritik bir parçasını oluşturmaktadır (Ma et al., 2022).

Kodlayıcı olmayan RNA'lar (ncRNA), yapısal özelliklerine ve fonksiyonlarına göre farklı alt gruplara ayrılmaktadır. Kanser biyolojisinde en fazla incelenen ncRNA türleri MikroRNA (miRNA), Uzun kodlayıcı olmayan RNA (lncRNA), Circular RNA (circRNA), Small interfering RNA (siRNA) ve Piwi-interacting RNA (piRNA) olarak sınıflandırılmaktadır. Bu moleküller, gen ekspresyonunu hem transkripsiyonel hem de post-transkripsiyonel düzeyde düzenleyerek hücrelerde epigenetik süreçlerin kontrolünü sağlarlar.

##### **4.1. Mikro RNA'lar (miRNA)**

Mikro RNA'lar (miRNA), yaklaşık 20-24 nükleotid uzunluğunda, protein kodlaması yapmayan ve hücrelerde mRNA'ya bağlanarak genin ekspresyonunu baskılayan küçük RNA molekülleridir. Post-transkripsiyonel olarak görev yapan miRNA'lar kanser dahil birçok hastalıkta ve biyolojik süreçlerde kritik rol oynamaktadırlar (Chi et al., 2022).

Kanserde miRNA ekspresyon bozuklukları, tümör baskılayıcı genlerin susturulması veya onkogenik yolların aktivasyonu vasıtasıyla tümör progresyonuna katkıda bulunur. Örnek olarak, miR-21'in birçok kanser türünde yüksek

ekspresyon gösterdiği ve hücre proliferasyonu ile invazyonu artırdığı ve özellikle meme kanserinde yüksek miR-21 düzeyleri kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (J. J. Wang et al., 2019).

#### **4.2. Uzun kodlayıcı olmayan RNA (lncRNA)**

Uzun kodlayıcı olmayan RNA (lncRNA)'lar, uzunluğu 200 nükleotitten fazla olan ve protein kodlaması yapmayan RNA molekülleridir. Genom boyunca transkribe olurlar ancak protein kodlama kapasitesine sahip değildirler. Bunun yerine hücrelerde kromatin düzenlenmesi, epigenetik kontrol, transkripsiyonel düzenleme ve gen ekspresyonunun yönetimi gibi temel süreçlerde düzenleyici olarak görev yaparlar (Gupta et al., 2010).

Uzun kodlayıcı olmayan RNA'lar arasında MALAT1 ve HOTAIR, birçok tümör türünde artmış ekspresyon gözlenmektedir. MALAT1, tümörle ilişkili Wnt/ betakatenin, ERK/MAPK ve PI3K/AKT gibi sinyal yollarını etkileyerek hücre proliferasyonu ve metastaz süreçlerini düzenlemektedir (Masrour, Khanmohammadi, Habibzadeh, & Fallahtafti, 2024). HOTAIR ise PRC2 kompleksi aracılığıyla histon metilasyonunu düzenleyerek gen ekspresyonunu epigenetik düzeyde kontrol edebilmektedir (Ghorbani & Ghorbian, 2025). Bu nedenle MALAT1 ve HOTAIR gibi lncRNA'lar, kanser gelişimi ve prognozunun değerlendirilmesinde potansiyel biyobelirteçler olarak klinik onkolojide önem arz etmektedir.

### **5. KROMATİN YENİDEN DÜZENLENMESİ**

Kromatin yeniden düzenlenmesi, ATP bağımlı komplekslerin nükleozomun konumunu değiştirerek (kaydırmak, gevşetmek olabilir) histon proteinlerine sarılı DNA'ya erişilebilirliğini düzenlediği temel epigenetik mekanizmalardan biridir. Nükleozomların yeniden konumlandırılması sonucu, kromatin daha esnek bir yapı halini alır ve bu sayede

transkripsiyon faktörlerinin DNA'ya erişimi sağlanmış olur. (Mashtalir et al., 2018).

Kromatin yeniden düzenleme mekanizmaları gen ekspresyonunun düzenlenmesi, DNA onarımı ve hücresel farklılaşma gibi birçok temel biyolojik süreçte rol almaktadır. Bu süreçler genellikle ATP bağımlı kromatin yeniden düzenleme kompleksleri tarafından gerçekleştirilmektedir. Başlıca kromatin yeniden düzenleme kompleksleri arasında SWI/SNF, ISWI, CHD ve INO80 protein aileleri yer almaktadır. Bu ATP-bağımlı kromatin yeniden düzenleme kompleksleri, özellikle SWI/SNF ailesi, nükleozom konumlanmasını değiştirerek, kromatin erişilebilirliğinde ve gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Örneğin, *ARIDIA* biriminin kaybı, düzenleyici aktiviteleri bozarak gen ekspresyon profillerinin değişmesine yol açmaktadır (Mathur et al., 2017).

Kromatin yeniden düzenlenmesinde görev alan SWI/SNF kompleksinin alt birimlerinde meydana gelen mutasyonlar, genom üzerindeki hedef bölgelere bağlanma kapasitesini bozarak epigenetik değişikliğe sebep olmaktadır. *ARIDIA*, *SMARCA4*, *PBRM1* ve *SMARCB1* gibi önemli kayıplar veya işlevsel bozukluklar promotör erişilebilirliğinin azalmasına ve tümör baskılayıcı genlerin susturulmasına sebep olarak çeşitli kanser türlerinde tümör gelişimini hızlandırmaktadır (Reddy, Bhattacharya, & Workman, 2023).

## 6. SONUÇ

Epigenetik mekanizmalar DNA dizisinde herhangi bir değişiklik olmaksızın gen ekspresyonunu düzenleyen biyolojik süreçlerdir. DNA metilasyonu, histon modifikasyonları, kodlama yapmayan RNA'lar ve kromatin yeniden düzenleyici gibi epigenetik düzenleyiciler, hücrelerde farklılaşma ile gelişimini sağlamada ve genomun stabilitesini korumada önemli rol alırlar. Bu mekanizmalarda oluşan herhangi bir bozukluk ise kanser gibi

birçok hastalığın oluşumuyla ve patogeneziyle yakından ilişkilidir.

Son yıllarda epigenetik mekanizmaların erken evrelerde ortaya çıkması ve çoğu zaman geri dönüşümlü olabilme özelliği sayesinde, bu mekanizmalar klinik kullanımda önemli biyobelirteçler halini almıştır. Özellikle DNA paternleri, histon modifikasyon profilleri ve ncRNA ekspresyon düzeyleri kanserde erken tanı, prognoz ve tedavi değerlendirmesinde umut verici moleküler araçlar olarak değerlendirilmektedir. Bunlara ek olarak sıvı biyopsi gibi invaziv olmayan yaklaşımlar kanser hastalığının yönetiminde kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde katkıda bulunmaktadır.

Epigenetik biyobelirteçlerin genomik ve transkriptomik verilerle entegre edildiği çoklu omik yaklaşımlar, gelecekte kanser tanı ve tedavisinde daha hassas ve kişiselleştirilmiş stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

Gelecekte epigenomik teknolojilerin gelişmesi ve daha hassas yüksek çözünürlüklü analiz yöntemlerinin yaygınlaşması ile epigenetik biyobelirteçlerin klinik alanda rolü artması beklenmektedir. Bu nedenle epigenetik mekanizmaların daha iyi anlaşılması ve epigenomik teknolojilerin klinik uygulamalara entegrasyonu, kanserde erken tanı, prognozu belirleme ve hedefe yönelik tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi açısından önemli bir potansiyel taşımaktadır.

## **KAYNAKÇA**

- Alegria-Torres, J. A., Baccarelli, A., & Bollati, V. (2011). Epigenetics and lifestyle. *Epigenomics*, 3(3), 267-277. doi:10.2217/epi.11.22
- Allis, C. D., & Jenuwein, T. (2016). The molecular hallmarks of epigenetic control. *Nat Rev Genet*, 17(8), 487-500. doi:10.1038/nrg.2016.59
- Bai, J., Wang, Z., Yang, M., Xiang, J., & Liu, Z. (2024). Disrupting CENP-N mediated SEPT9 methylation as a strategy to inhibit aerobic glycolysis and liver metastasis in colorectal cancer. *Clin Exp Metastasis*, 41(6), 971-988. doi:10.1007/s10585-024-10316-z
- Bartova, E., Krejci, J., Harnicarova, A., Galiova, G., & Kozubek, S. (2008). Histone modifications and nuclear architecture: a review. *J Histochem Cytochem*, 56(8), 711-721. doi:10.1369/jhc.2008.951251
- Baylin, S. B., & Jones, P. A. (2016). Epigenetic Determinants of Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 8(9). doi:10.1101/cshperspect.a019505
- Berdasco, M., & Esteller, M. (2019). Clinical epigenetics: seizing opportunities for translation. *Nat Rev Genet*, 20(2), 109-127. doi:10.1038/s41576-018-0074-2
- Boldrin, E., Piano, M. A., Volpato, A., Alfieri, R., Franco, M., Morbin, T., . . . Curtarello, M. (2025). Global Hypomethylation as Minimal Residual Disease (MRD) Biomarker in Esophageal and Esophagogastric Junction Adenocarcinoma. *Cancers (Basel)*, 17(16). doi:10.3390/cancers17162668
- Brandner, S., McAleenan, A., Kelly, C., Spiga, F., Cheng, H. Y., Dawson, S., . . . Kurian, K. M. (2021). MGMT promoter methylation testing to predict overall survival in people

with glioblastoma treated with temozolomide: a comprehensive meta-analysis based on a Cochrane Systematic Review. *Neuro Oncol*, 23(9), 1457-1469. doi:10.1093/neuonc/noab105

Cao, J., & Yan, Q. (2012). Histone Ubiquitination and Deubiquitination in Transcription, DNA Damage Response, and Cancer. *Frontiers in Oncology*, 2. doi:10.3389/fonc.2012.00026

Cheedipudi, S., Genolet, O., & Dobrev, G. (2014). Epigenetic inheritance of cell fates during embryonic development. *Front Genet*, 5, 19. doi:10.3389/fgene.2014.00019

Chi, L. H., Cross, R. S. N., Redvers, R. P., Davis, M., Hediye-Zadeh, S., Mathivanan, S., . . . Anderson, R. L. (2022). MicroRNA-21 is immunosuppressive and pro-metastatic via separate mechanisms. *Oncogenesis*, 11(1), 38. doi:10.1038/s41389-022-00413-7

Chu, D. T., Ngo, A. D., & Wu, C. C. (2023). Epigenetics in cancer development, diagnosis and therapy. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 198, 73-92. doi:10.1016/bs.pmbts.2023.01.009

Dugue, P. A., Jung, C. H., Joo, J. E., Wang, X., Wong, E. M., Makalic, E., . . . Milne, R. L. (2020). Smoking and blood DNA methylation: an epigenome-wide association study and assessment of reversibility. *Epigenetics*, 15(4), 358-368. doi:10.1080/15592294.2019.1668739

Fu, Z., Xu, Y., Chen, Y., Lv, H., Chen, G., & Chen, Y. (2021). Construction of miRNA-mRNA-TF Regulatory Network for Diagnosis of Gastric Cancer. *Biomed Res Int*, 2021, 9121478. doi:10.1155/2021/9121478

Gao, L., Guo, Y., Biswal, M., Lu, J., Yin, J., Fang, J., . . . Song, J. (2022). Structure of DNMT3B homo-oligomer reveals

- vulnerability to impairment by ICF mutations. *Nat Commun*, 13(1), 4249. doi:10.1038/s41467-022-31933-w
- Ghorbani, V., & Ghorbian, S. (2025). Gene expression profiling of lncRNA-HOTAIR and lncRNA-MALAT1 in esophageal cancer: uncovering links to lifestyle factors and diagnostic significance. *Discov Oncol*, 16(1), 630. doi:10.1007/s12672-025-02465-8
- Greer, E. L., & Shi, Y. (2012). Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance. *Nat Rev Genet*, 13(5), 343-357. doi:10.1038/nrg3173
- Gupta, R. A., Shah, N., Wang, K. C., Kim, J., Horlings, H. M., Wong, D. J., . . . Chang, H. Y. (2010). Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature*, 464(7291), 1071-1076. doi:10.1038/nature08975
- Han, Z., Zhao, Y., Tang, Y., Yi, X., Li, J., Li, X., . . . Ai, J. (2025). Liquid biopsy for promoter methylation in prostate cancer: a promising non-invasive diagnostic weapon. *World J Urol*, 43(1), 353. doi:10.1007/s00345-025-05728-9
- Huang, F., Wu, X., Du, Q., Lin, J., Ma, W., & Liu, J. (2024). Systematic Characterization of DNA Methyltransferases Family in Tumor Progression and Antitumor Immunity. *Technol Cancer Res Treat*, 23, 15330338241260658. doi:10.1177/15330338241260658
- Hughes, A. L., Szczurek, A. T., Kelley, J. R., Lastuvkova, A., Turberfield, A. H., Dimitrova, E., . . . Klose, R. J. (2023). A CpG island-encoded mechanism protects genes from premature transcription termination. *Nat Commun*, 14(1), 726. doi:10.1038/s41467-023-36236-2

- Leung, J. Y., Chiu, H. Y., & Taneja, R. (2025). Role of epigenetics in paediatric cancer pathogenesis & drug resistance. *British Journal of Cancer*, *132*(9), 757-769. doi:10.1038/s41416-025-02961-2
- Lin, J., Chen, L., & Zhang, D. (2024). Long non-coding RNA LINC-PINT as a novel prognostic biomarker in human cancer: a meta-analysis and machine learning. *Sci Rep*, *14*(1), 7483. doi:10.1038/s41598-024-57836-y
- Lin, Y., Lin, A., Cai, L., Huang, W., Yan, S., Wei, Y., . . . Zhang, J. (2023). ACSS2-dependent histone acetylation improves cognition in mouse model of Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*, *18*(1), 47. doi:10.1186/s13024-023-00625-4
- Liu, M. C., Oxnard, G. R., Klein, E. A., Swanton, C., Seiden, M. V., & Consortium, C. (2020). Sensitive and specific multi-cancer detection and localization using methylation signatures in cell-free DNA. *Ann Oncol*, *31*(6), 745-759. doi:10.1016/j.annonc.2020.02.011
- Liu, Y., Sun, Y., Yang, J., Wu, D., Yu, S., Liu, J., . . . Zhou, H. (2024). DNMT1-targeting remodeling global DNA hypomethylation for enhanced tumor suppression and circumvented toxicity in oral squamous cell carcinoma. *Mol Cancer*, *23*(1), 104. doi:10.1186/s12943-024-01993-1
- Ma, Q., Yang, L., Tolentino, K., Wang, G., Zhao, Y., Litzenburger, U. M., . . . Chang, H. Y. (2022). Inducible lncRNA transgenic mice reveal continual role of HOTAIR in promoting breast cancer metastasis. *Elife*, *11*. doi:10.7554/eLife.79126
- Mashtalir, N., D'Avino, A. R., Michel, B. C., Luo, J., Pan, J., Otto, J. E., . . . Kadoch, C. (2018). Modular Organization and

Assembly of SWI/SNF Family Chromatin Remodeling Complexes. *Cell*, 175(5), 1272-1288 e1220. doi:10.1016/j.cell.2018.09.032

Masrouf, M., Khanmohammadi, S., Habibzadeh, A., & Fallahtafti, P. (2024). LncRNA MALAT1 as diagnostic and prognostic biomarker in colorectal cancers: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 19(10), e0308009. doi:10.1371/journal.pone.0308009

Mathur, R., Alver, B. H., San Roman, A. K., Wilson, B. G., Wang, X., Agoston, A. T., . . . Roberts, C. W. (2017). ARID1A loss impairs enhancer-mediated gene regulation and drives colon cancer in mice. *Nat Genet*, 49(2), 296-302. doi:10.1038/ng.3744

McCabe, M. T., Brandes, J. C., & Vertino, P. M. (2009). Cancer DNA methylation: molecular mechanisms and clinical implications. *Clin Cancer Res*, 15(12), 3927-3937. doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-2784

Michael, D. C., & Mehdipour, P. (2026). DNA methyltransferase inhibitors in oncology: clinical progress, limitations and future directions. *Epigenomics*. doi:10.1080/17501911.2026.2637418

Muller, D., & Gyorffy, B. (2022). DNA methylation-based diagnostic, prognostic, and predictive biomarkers in colorectal cancer. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 1877(3), 188722. doi:10.1016/j.bbcan.2022.188722

Reddy, D., Bhattacharya, S., & Workman, J. L. (2023). (mis)-Targeting of SWI/SNF complex(es) in cancer. *Cancer Metastasis Rev*, 42(2), 455-470. doi:10.1007/s10555-023-10102-5

- Ren, W., Gao, L., & Song, J. (2018). Structural Basis of DNMT1 and DNMT3A-Mediated DNA Methylation. *Genes (Basel)*, 9(12). doi:10.3390/genes9120620
- Rossetto, D., Avvakumov, N., & Cote, J. (2012). Histone phosphorylation: a chromatin modification involved in diverse nuclear events. *Epigenetics*, 7(10), 1098-1108. doi:10.4161/epi.21975
- Sadida, H. Q., Abdulla, A., Marzooqi, S. A., Hashem, S., Macha, M. A., Akil, A. S. A., & Bhat, A. A. (2024). Epigenetic modifications: Key players in cancer heterogeneity and drug resistance. *Transl Oncol*, 39, 101821. doi:10.1016/j.tranon.2023.101821
- Shanmukha, K. D., Paluvai, H., Lomada, S. K., Gokara, M., & Kalangi, S. K. (2023). Histone deacetylase (HDACs) inhibitors: Clinical applications. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 198, 119-152. doi:10.1016/bs.pmbts.2023.02.011
- Shen, H., Jin, Y., Zhao, H., Wu, M., Zhang, K., Wei, Z., . . . Chen, K. (2022). Potential clinical utility of liquid biopsy in early-stage non-small cell lung cancer. *BMC Med*, 20(1), 480. doi:10.1186/s12916-022-02681-x
- Stefansson, O. A., Hilmarsdottir, H., Olafsdottir, K., Tryggvadottir, L., Sverrisdottir, A., Johannsson, O. T., . . . Sigurdsson, S. (2020). BRCA1 Promoter Methylation Status in 1031 Primary Breast Cancers Predicts Favorable Outcomes Following Chemotherapy. *JNCI Cancer Spectr*, 4(2), pkz100. doi:10.1093/jncics/pkz100
- Takeshita, K., Suetake, I., Yamashita, E., Suga, M., Narita, H., Nakagawa, A., & Tajima, S. (2011). Structural insight into maintenance methylation by mouse DNA methyltransferase 1 (Dnmt1). *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108(22), 9055-9059. doi:10.1073/pnas.1019629108

- Tsui, W. H. A., Jiang, P. Y., & Lo, Y. M. D. (2025). Cell-free DNA fragmentomics in cancer. *Cancer Cell*, 43(10), 1792-1814. doi:10.1016/j.ccell.2025.09.006
- Wang, J. J., Huang, Y. Q., Song, W., Li, Y. F., Wang, H., Wang, W. J., & Huang, M. (2019). Comprehensive analysis of the lncRNA-associated competing endogenous RNA network in breast cancer. *Oncol Rep*, 42(6), 2572-2582. doi:10.3892/or.2019.7374
- Wang, Y., Huang, H., Chen, J., & Weng, H. (2024). Crosstalk between histone/DNA modifications and RNA N(6)-methyladenosine modification. *Curr Opin Genet Dev*, 86, 102205. doi:10.1016/j.gde.2024.102205
- Wang, Y., Jiao, B., Hu, Z., & Wang, Y. (2024). Critical Role of histone deacetylase 3 in the regulation of kidney inflammation and fibrosis. *Kidney Int*, 105(4), 775-790. doi:10.1016/j.kint.2024.01.010
- Wei, Z., Kou, Z., Luo, Y., & Cheng, Y. (2025). DNA methyltransferase 3A: A prognostic biomarker and potential target for immunotherapy in gastric cancer. *Medicine (Baltimore)*, 104(7), e41578. doi:10.1097/MD.00000000000041578
- Wen, J., Deng, S., Bi, Y., Qiao, L., & Xu, H. (2023). Association between multiple gene promoter hypermethylation and the risk of gastric cancer: A systematic review and meta-analysis. *Dig Liver Dis*, 55(1), 40-45. doi:10.1016/j.dld.2022.03.009
- Yang, Y., Zhang, M., & Wang, Y. (2022). The roles of histone modifications in tumorigenesis and associated inhibitors in cancer therapy. *J Natl Cancer Cent*, 2(4), 277-290. doi:10.1016/j.jncc.2022.09.002

- Zhang, X. M., Liu, D. Q., Yin, S. L., Gao, Y. R., Li, X. R., & Wu, G. Z. (2025). Metabolism and epigenetics in cancer: toward personalized treatment. *Frontiers in Endocrinology*, 16. doi:ARTN 1530578 10.3389/fendo.2025.1530578
- Zhou, J. D., & Shen, H. Z. (2025). Advances in pancreatic cancer epigenetics: From the mechanism to the clinic. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 17(7). doi:ARTN 106238 10.4251/wjgo.v17.i7.106238
- Zhu, X., Shan, L., Wang, F., Wang, J., Wang, F., Shen, G., . . . Yang, H. (2015). Hypermethylation of BRCA1 gene: implication for prognostic biomarker and therapeutic target in sporadic primary triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 150(3), 479-486. doi:10.1007/s10549-015-3338-y
- Zocher, S., Overall, R. W., Berdugo-Vega, G., Rund, N., Karasinsky, A., Adusumilli, V. S., . . . Kempermann, G. (2021). De novo DNA methylation controls neuronal maturation during adult hippocampal neurogenesis. *EMBO J*, 40(18), e107100. doi:10.15252/embj.2020107100

# **KANSERDE TEDAVİ DİRENCİNDE mikroRNA'LARIN ROLÜ**

**İrem YILDIRIM<sup>1</sup>**

**Bakiye GÖKER BAĞCA<sup>2</sup>**

**Çığır BİRAY AVCI<sup>3</sup>**

## **1. GİRİŞ**

Kanserdeki tedavi direnci, tedavi başarısızlığında önemli bir sorundur. Metastatik kanserli hastaların %90'ından fazlasında kanserde tedavi direnci mevcuttur. Son yıllarda onkolojide hedefe yönelik ajanlar ve kişiselleştirilmiş tıp uygulamaları büyük başarılar elde etse de tedaviye başlangıçta yanıt veren hastaların çoğunda minimal kalıntı hastalık (MRD) üzerinden gelişen terapötik direnç, aşılması gereken en büyük klinik engeldir. Bu direnç, kanser hücrelerinin terapötik baskıdan kaçmak için kazandıkları genetik mutasyonlar ve klonal evrime dayandırılmıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, epigenetik faktörlerin de kanserde tedavi direncinin gelişmesine katkı sağladığını göstermiştir. Kanser hücrelerinin gen dizilimlerini değiştirmeden uygulanan tedaviye hızla uyum sağlamasına olanak tanıyan epigenetik mekanizmaların, özellikle de post-transkripsiyonel düzenleyici mikroRNA'ların (miRNA) rolünü

---

<sup>1</sup> Doktora Öğrencisi, Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, ORCID: 0009-0007-5967-9125.

<sup>2</sup> Doç. Dr, Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, ORCID: 0000-0002-5714-7455.

<sup>3</sup> Prof. Dr, Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, ORCID: 0000-0002-2748-3124.

aydınlatmak, yeni nesil kombinasyon tedavilerinin geliştirilmesi için kritik bir öneme sahiptir (Marine vd., 2020).

## **2. mikroRNA**

miRNA'lar, gen ekspresyonunu post-transkripsiyonel düzeyde, hedef mRNA'ların yıkımını sağlayarak veya translasyonunu baskılayarak düzenleyen, yaklaşık 22 nükleotit uzunluğunda kodlamayan endojen RNA molekülleridir (Bartel, 2004). Biyolojik süreçlerin çoğunda anahtar rol oynayan miRNA'ların biyogenezi, çekirdek içinde RNA Polimeraz II enzimi tarafından birincil transkriptler olan pri-miRNA'ların sentezlenmesiyle başlamaktadır. Bu uzun pri-miRNA molekülleri, çekirdekteki RNaz III enzimi Drosha ve çift sarmallı RNA bağlayıcı kofaktörü DGCR8/Pasha kompleksi tarafından işlenerek 70-100 nükleotidlik öncül pre-miRNA'lara dönüştürülmektedir. Çekirdekten sitoplazmaya Exportin proteinleri aracılığıyla taşınan pre-miRNA'lar, burada TRBP/Loquacious proteinleri eşliğinde çalışan bir diğeri RNaz III enzimi olan Dicer tarafından kesilmekte ve yaklaşık 21 nükleotidlik olgun miRNA:miRNA dupleksini oluşturmaktadır. Son aşamada, helikaz aktivitesiyle ayrılan sarmallardan biri, Argonaute (AGO) proteinlerini içeren RNA Susturma Kompleksine (RISC) entegre olmakta ve gen susturma işlevini yerine getirmek üzere hedef mRNA'nın 3'-çevrilmeyen bölgesine (3'-UTR) bağlanmaktadır (Ho vd., 2022).

miRNA'ların kanser patogenezindeki kritik rolü, literatürde ilk kez Calin ve arkadaşları tarafından aydınlatılmıştır. Söz konusu çalışmada, kronik lenfositik lösemi vakalarında sıkça görülen 13q14 kromozom bölgesi delesyonunun miR-15 ve miR-16 kaybına yol açtığı ve bu durumun kanserle ilişkili olduğu keşfedilmiştir (Calin vd., 2002). Güncel veriler, miRNA'ların kanser gelişiminde hücre tipine ve hedeflenen gen ağına bağlı

olarak onkojenik (OncomiR) veya tümör baskılayıcı roller üstlendiğini göstermektedir. Bu bağlamda, kanser hücrelerinin proliferasyonu, apoptozdan kaçışı, metastatik kaskadı ve anjiyogenez uyarımı gibi tümör biyolojisinin en temel dinamiklerinin doğrudan miRNA ekspresyon profilleri tarafından yönetildiği kanıtlanmıştır (Acunzo vd., 2015; Garzon vd., 2009; B. Zhang vd., 2007).

### **3. KEMOTERAPİ DİRENCİNDE miRNA'LAR**

Kemoterapi, cerrahi ve radyoterapi ile kanser tedavisindeki ana yaklaşımlardan biridir. Çoğu kemoterapötik ajan, DNA replikasyonuna ve hücre mitozuna müdahale ederek, protein sentezini inhibe ederek ve hücre hasarına neden olarak etki göstermektedir. Kemoterapi, hızlı tümör hücresi büyümesini azaltmada ve metastatik hastalığı en aza indirmede genellikle etkilidir. Ancak ilaç direncinin gelişmesi, kemoterapinin başarısızlığına neden olmaktadır (H. Li & Yang, 2013).

#### **3.1. DNA Tamir Mekanizmalarının Aşırı Aktivasyonu**

DNA, iç ve dış stres faktörlerinin sürekli saldırısı altındadır. Hücre, bu tehditlere karşı genetik bütünlüğünü korumak amacıyla DNA Hasar Yanıtı (DDR) adı verilen bir savunma mekanizmasını devreye sokmaktadır. ATM ve ATR kinazlarının öncülük ettiği bu mekanizma, hasarı tespit ederek hücre döngüsünü durdurmakta, DNA onarım mekanizmalarını aktifleştirmekte veya hasar onarılamayacak boyuttaysa apoptozu tetiklemektedir. Ancak bu onarım mekanizmaları başarısız olduğunda veya *p53* gibi kritik tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu ile DDR bariyeri aşıldığında durum değişmektedir. Onarılamayan DNA lezyonları, hücre bölünmesi sırasında kalıcı genetik mutasyonlara, delesyonlara ve kromozomal anomalilere dönüşerek karsinogeneze yol açmaktadır (Wouters vd., 2011).

Kanser hücrelerinin kemoterapi ve radyoterapiye karşı geliştirdiği hücreyel yanıt ve tedavi direnci, DDR mekanizmalarının miRNA tarafından epigenetik düzeyde yeniden programlanmasıyla sıkı sıkıya bağlantılıdır. miRNA'lar, DDR ile ilgili genlerin mRNA'larının 3'-UTR bölgesine etki ederek mRNA'yı bozmakta veya transkripsiyonel susturmaya neden olmakta, böylece genlerin ekspresyonunu etkilemektedirler (Y. Li vd., 2022). DDR'nin kilit yöneticileri olan ATM, ATR kinazları ve p53 tümör baskılayıcı proteini, doğrudan spesifik miRNA ağlarının hedefidir. Örneğin, miR-421 ve miR-18a, *ATM* genini post-transkripsiyonel olarak baskılayarak homolog rekombinasyonu zayıflatıp hücreleri iyonize radyasyona duyarlı hale getirir (Hu vd., 2010; McIntyre vd., 2024). DNA hasarına yanıt olarak p53 tarafından indüklenen ve normalde apoptozu tetikleyen miR-34 ailesinin kaybı, hücrelerin genotoksik strese rağmen hayatta kalmasına ve direnç kazanmasına yol açar (Bommer vd., 2007). Güncel çalışmalar, HeLa hücrelerinde miR-34a ve miR-449a'nın kaybının, DDR mekanizmalarının bozulmasına ve *PACSI* gibi onkogenik faktörlerin aşırı ekspresyonuna neden olarak kanser hücresi proliferasyonunu doğrudan desteklediğini göstermektedir (Gupta vd., 2022). Onkogenik miR-155 ve miR-21, Yanlış Eşleşme Onarımı (MMR) proteinlerini (MLH1, MSH2, MSH6) doğrudan susturarak hücrede mutant bir fenotip yaratır ve 5-florourasil (5-FU) gibi ajanlara karşı direncin temelini oluşturmaktadır (Valeri, Gasparini, Braconi, vd., 2010; Valeri, Gasparini, Fabbri, vd., 2010). Öte yandan, hipoksik tümör mikroçevresinde artan miR-210 ve miR-373 ise Nükleotid Eksizyon Onarımı (NER) mekanizmasında görevli RAD52 ve RAD23B proteinlerini baskılayarak DDR'yi inhibe etmektedir (Crosby vd., 2009).

### **3.2. İlaç Dışa Atım Pompaları ve ABC Taşıyıcıları**

Kanser tedavisinin önündeki en zorlu engellerden biri, tümör hücrelerinin yapısal veya işlevsel olarak birbirinden farklı

birçok kemoterapötik ajana eş zamanlı direnç göstermesiyle tanımlanan Çoklu İlaç Direnci (MDR) olgusudur. İlaç maruziyeti öncesinde tümörün genetik altyapısında zaten var olan doğal direnç ve uzun süreli kemoterapi stresi altında hücrel adaptasyonla sonradan gelişen kazanılmış direnç olmak üzere MDR iki temel fenotipe ayrılmaktadır. Özellikle kazanılmış MDR'nin klinikte sıkça ortaya çıkması, tümör proliferasyonunu ve metastaz kaskadını durdurmayı zorlaştırarak sağkalımı ciddi oranda düşürmektedir. Kanser hücrelerine bu agresif savunma mekanizmasını kazandıran en kritik moleküler faktörlerin başında ise, ATP-bağlayıcı kaset (ABC) taşıyıcı pompalarının aşırı ekspresyonu gelmektedir. Fizyolojik olarak, ABC taşıyıcıları ksenobiyotiklerin, lipidlerin ve metabolik ürünlerin atılımında önemli bir rol oynamaktadır. Ancak MDR'de ABC taşıyıcılarının aşırı ekspresyonu, hücrelerin içindeki ilaç birikimini azaltarak kemoterapinin etkinliğini tehlikeye atmaktadır (Mohammadi vd., 2025).

ABC ailesinin kanser direncindeki en önemli üyeleri olan *ABCB1* (*P-glikoprotein*), *ABCC1/2* (*MRP1/2*) ve *ABCG2* (*BCRP*), spesifik miRNA'ların doğrudan post-transkripsiyonel kontrolü altındadır. Örneğin, meme kanseri ve lösemi modellerinde miR-451, miR-298, miR-27a ve miR-331-5p doğrudan *ABCB1*'i hedeflerken miR-137 ise *ABCB1*'in transkripsiyon faktörü olan YB-1'i baskılayarak direnci dolaylı yoldan kırmaktadır. Meme kanserinde miR-326, pankreas kanserinde miR-1291 ve kolorektal kanserde miR-297 *ABCC* ailesi üyesi proteinleri baskılayarak kemoduyarlılığı artırmaktadır (Yimei Wang vd., 2024).

Mide kanserinde sisplatin dirençli hücrelerde miR-424-3p'nin doğrudan *ABCC2* ekspresyonunu modüle ederek dışa atım mekanizmalarını etkilediği gösterilmiştir. Hematolojik malignitelerden Multipl Miyelom'da bortezomibe dirençli hücrelerde anormal derecede düşük olan miR-631

ekspresyonunun artırılması, UbcH10 proteinini inhibe ederek *P-glikoprotein* pompasının ubikuitinasyonunu hızlandırmaktadır. Bu sayede *MDR1* parçalanarak hücre zarındaki seviyesi düşmekte ve ilacın hücre dışına atılımı engellenerek borteomib direnci inhibe edilmektedir (Najafi vd., 2022).

Onkojenik miR-21'in farklı kanser türlerinde MDR'yi farklı mekanizmalarla da tetiklediğini göstermiştir. Örneğin over kanserinde aşırı eksprese edilen miR-21, *CD44v6* ve *P-glikoprotein* etkileşimini artırarak hücrenin sisplatine karşı direncini ve metastatik kapasitesini yükseltir. Benzer şekilde, akut miyeloid lösemide artan miR-21-5p ve miR-15a-5p ekspresyonu, *PDCD4*, *ARL2* ve *BTG2* gibi kritik pro-apoptotik genleri hedefleyip susturarak hücrelerin sitarabin ve daunorubisin gibi ajanların yarattığı apoptozdan kaçmasını sağlar (Vandewalle vd., 2021; Yanqing Wang vd., 2021).

### **3.3 Apoptozdan Kaçış ve Otofajik Adaptasyon**

Kanser hücrelerinin kemoterapötik stresten sağ çıkmak için başvurduğu en temel savunma mekanizmalarından biri, apoptozdan kaçış ve koruyucu otofajik adaptasyondur. Otofaji, kanser gelişiminde erken evrelerde tümör baskılayıcı olarak çalışsa da tedavi gören yerleşik tümörlerde hücrenin hayatta kalmasını sağlayan bir mekanizmaya dönüşmektedir (Kung vd., 2011). Kemoterapi hasarı karşısında kanser hücreleri, hasarlı organelleri temizlemek, hücresel enerjiyi korumak ve apoptozu ertelemek amacıyla *BECN1*, *ATG3*, *ATG5* ve *ATG7* genlerini aşırı aktive etmektedir. Tümörün bu otofaji adaptasyonu, sitotoksik ilaçların tetiklediği hücre ölüm kaskadını atlattırmasını sağlayarak kazanılmış kemodirencin temelini oluşturmaktadır (Jing vd., 2020).

Otofajinin temel genleri olan *Beclin-1* ve *ATG*, miRNA'lar tarafından hedeflenmektedir. miR-30 ailesi *Beclin-1*'i (Yang vd., 2017; Zou vd., 2012), miR-181a ve miR-199a ise

sırasıyla *ATG5* ve *ATG7*'yi susturarak hücrelerin sisplatin ve adriamisin gibi ajanlara karşı duyarlılığını yeniden kazanmasını sağlamaktadır (Xu vd., 2012; Zhao vd., 2016). miR-142-3p ve miR-410 otofajinin ana indükleyicilerinden biri olan HMGB1 proteinini doğrudan hedefleyerek tümör hücrelerinin direncini zayıflatmaktadır (Xiong vd., 2017; K. Zhang vd., 2018). Ayrıca mide kanserinde miR-495, GRP78 proteinini hedefleyerek hem otofajik akışı durmakta hem de *P-glikoprotein* ekspresyonunu baskılamaktadır (Chen vd., 2018). Ancak kemodirenç gelişiminde miRNA'lar her zaman tümör baskılayıcı rolde kalmazlar. Direnç tablosu, tümör hücrelerinde aşırı eksprese olarak kanser progresyonunu aktif şekilde sürükleyen onkojenik miRNA'lar tarafından da desteklenir. Hepatosellüler karsinomda aşırı üretilen miR-21'in hücreleri sorafenibe karşı dirençli hale getirdiği (He vd., 2015) ve özofagus karsinomunda artan miR-193a-3p ekspresyonunun kazanılmış dirence zemin hazırladığı (Meng vd., 2016) bildirilmiştir.

miR-424, meme kanserinde *Bcl-2*, *IGF1R* ve *kaspaz-3*'ü hedefleyerek hücreleri paklitaksel ve sisplatin gibi ajanlara karşı duyarlı hale getirirken küçük hücreli dışı akciğer kanserinde onkojenik *YAP1*'i baskılayıp *Bax/Bcl-2* oranını artırarak hücreleri apoptoza sürüklemektedir. Hematolojik kanserlerde ise miR-424, Kronik Miyeloid Lösemi'de *ABL* kinazı hedefleyerek imatinibe karşı duyarlılık sağlarken, Akut Miyeloid Lösemi'de *TRAIL* kaynaklı apoptoz direncini kırmaktadır (Najafi vd., 2022).

#### **4. RADYOTERAPİ DİRENCİNDE miRNA'LARIN ROLÜ**

Kanser tedavisinin temel yapıtaşlarından biri olan radyoterapi, kanser hastalarının yaklaşık %60'ının genel tedavi protokolünde yer almaktadır. Radyoterapi cihazları ve dozlama teknolojilerindeki ilerlemelere rağmen, kalıcı klinik başarının

önünde aşılması gereken ciddi hücresel engeller bulunmaya devam etmektedir. Bu engellerin en önemlisi, tümör hücrelerinin iyonize radyasyona karşı gösterdiği sonradan kazandığı radyodirençtir. Sağlıklı çevre dokulardaki toksisite riski nedeniyle uygulanan radyasyon dozunun belirli limitlerin üzerine çıkarılamaması, radyasyona dirençli kanser hücrelerinin yaşamasına, hastalık nüksüne ve olumsuz klinik sonuçlara yol açmaktadır (Al-Hawary vd., 2024).

#### **4.1. Oksidatif Stres ve DNA Çift Sarmal Kırıkları**

Kanser hücrelerinin yüksek metabolik hızı ve tümör mikro çevresi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikimine ve sürekli bir oksidatif strese neden olmaktadır. Bu durum, genomda DNA çift sarmal kırıklarına (DSB) yol açarak karsinogenezi hızlandıran ve tümörojenezi destekleyen genomik instabiliteyi tetiklemektedir. Öte yandan, kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanlar ve iyonize radyasyon da kanser hücrelerini apoptoza veya hücre yaşlanma sürüklemek için kasıtlı olarak ölümcül düzeyde ROS ve DSB oluşturmaktadır.

ROS veya iyonize radyasyon varlığında aşırı eksprese edilen miR-494, doğrudan MRN kompleksini hedefleyerek onarımı baskılamaktadır (Espinosa-Diez vd., 2018). MRN kompleksinin diğer hayati bileşenleri olan MRE11, miR-140 (Horak vd., 2022) tarafından RAD51 ise miR-506 (Bagnoli vd., 2022) tarafından hedeflenerek susturulmakta, bu durum epigenetik baskılama hücrede onarılamayan DSB'lerin birikmesine ve apoptoza yol açmaktadır.

Pankreas kanseri hücrelerinde miR-373, NAD<sup>+</sup> bağımlı histon deasetilaz SIRT1'i doğrudan hedefleyerek tümör baskılayıcı rol oynamaktadır. miR-373, *SIRT1* aracılı *PGC-1 $\alpha$ /NRF2* yolağını baskılayarak hücre içi ROS stresini artırmakta, anti-apoptotik *BCL-2*'yi azaltmakta, *BAX* ve *Kaspaz 8*, *Kaspaz 3*

ve *Kaspaz 9*'u aktive ederek kanser hücrelerini apoptoza sürüklemektedir (Yin vd., 2021).

#### **4.2. Hipoksi ve Radyodirenç**

Kanser hastalarının radyoterapiye karşı gösterdiği klinik başarısızlığın ve direncin en güçlü hücresel belirleyicilerinden biri, tümör mikroçevresindeki kronik oksijen yetersizliği, yani hipoksidir. Sağlıklı dokularda oksijen basıncı 60 mmHg'nin üzerindeyken, tümör dokusunda bu değer ortalama 10 mmHg'ye kadar düşmektedir. Radyoterapi, tümör hücrelerinde DNA hasarı yaratmak için büyük ölçüde oksijen radikallerine ihtiyaç duyduğundan, hipoksik mikroçevre radyasyonun sitotoksik etkisini doğrudan sınırlamaktadır. Ancak hipoksinin asıl yıkıcı rolü, Hipoksi Uyarılabilir Faktör-1 (HIF1) gibi transkripsiyon faktörlerini stabilize ederek hücrenin hayatta kalma ve radyodirenç genlerini aşırı aktifleştirmesidir (Shen vd., 2013).

Literatürde ana hipoksi miRNA'sı olarak bilinen miR-210'un artışı, tümör hücresi için çok yönlü bir koruma kalkını oluşturmaktadır. miR-210'un promotör bölgesinde, HIF-1 $\alpha$ 'nın doğrudan bağlandığı bir hipoksiye duyarlı element tanımlanmıştır. Artan miR-210, hücre metabolizmasını glikolize yönlendirerek, *E2F3* ve *MNT* gibi genler üzerinden hücre döngüsünü manipüle ederek ve apoptozu bloke ederek tümör hücrelerinin iyonize radyasyon hasarından sağ çıkmasını sağlamaktadır (Lian vd., 2023).

#### **4.3. Kanser Kök Hücrelerinin Korunması**

Kanser kök hücreleri (KKH'ler), tümör dokusu içinde az sayıda bulunan ancak kendi kendini yenileme, metastaz ve tedaviye direnç gibi oldukça agresif özelliklere sahip hücre popülasyonlarıdır. Genellikle *CD44*, *CD133*, *CD24* ve *ALDH1* gibi spesifik yüzey belirteçleri ile tanımlanan bu hücreler, tümör heterojenliğinin, hastalığın nüksetmesinin ve kötü klinik tablonun temel sorumlusu olarak kabul edilmektedir (Khan vd., 2019).

Meme kanserinde, normalde kök hücre havuzunu sınırlayan miR-34a (Bonetti vd., 2018) ve endokrin tedavi duyarlılığını artıran let-7 (Sun vd., 2018) gibi miRNA'ların baskılanması, hücrelerin kendi kendini yenileme kapasitesini anormal düzeyde artırmaktadır. Akciğer kanserinde ise miR-128'in kaybı, *AKT*, *ERK* ve *p38* yolakları üzerindeki baskılayıcı etkiyi kaldırarak KKH'lerin çoğalmasını indüklemekte ve gefitinib gibi hedefe yönelik ajanlara karşı direnç gelişmesine zemin hazırlamaktadır (Jiang vd., 2016).

Kolorektal kanserde aşırı üretilen miR-196b-5p, *STAT3* sinyal yolağını aktive ederek *NANOG*, *SOX2* ve *OCT4* gibi temel kök hücre transkripsiyon faktörlerinin sentezini artırmaktadır. Bu durum doğrudan tümörosfer oluşumunu ve kemodirenci tetiklemektedir (Ren vd., 2017). Prostat kanserinde ise miR-424'ün anormal artışı, E3 ubiquitin ligaz *COPI1*'i baskılayıp *STAT3*'ün yıkımını engelleyerek hücre göçünü, invazyonunu ve kök hücre kümesi oluşumunu artırmaktadır (Dallavalle vd., 2016). Meme kanserinde de güçlü bir PTEN inhibitörü olarak çalışan miR-221/miR-222'nin aşırı üretimi, *Akt/NF-κB* sinyalleri üzerinden kanser kök hücre havuzunun zenginleşmesine ve tümörün büyümesine aracılık etmektedir (B. Li vd., 2017).

## **5. SINIRLILIKLAR VE GELECEK PERSPEKTİFLERİ**

### **5.1. Sınırlılıklar**

Kanserde miRNA aracılı tedavi direncinin hücresel mekanizmalarının aydınlatılması büyük bir terapötik potansiyel taşısa da, bu moleküllerin klinikte rutin hedefe yönelik ajanlar olarak kullanılmasının önünde aşılması gereken önemli sınırlılıklar bulunmaktadır. En temel biyolojik engel, tek bir miRNA'nın yüzlerce farklı mRNA'yı eşzamanlı olarak hedefleyebilme kapasitesidir. Bu durum, kanser hücreleri

hedeflenirken sağlıklı dokularda öngörülemeyen hedef dışı toksisitelere ve istenmeyen gen susturmalarına yol açma riski taşımaktadır. Terapötik açıdan ise, sentetik miRNA moleküllerinin sistemik dolaşımında nükleaz enzimleri tarafından hızla parçalanması ve hücre zarını geçmedeki zorlukları, ciddi bir farmakokinetik bariyer oluşturmaktadır. Ayrıca, mevcut tedavi direnci çalışmalarının büyük çoğunluğunun tümörün üç boyutlu karmaşık yapısını ve mikroçevresini tam olarak yansıtamayan standart 2D *in vitro* hücre kültürlerine dayanması, elde edilen verilerin klinik başarıya dönüşme oranını kısıtlamaktadır.

## **5.2. Gelecek Perspektifleri**

Gelecekteki onkolojik çalışmaların en önemli odak noktalarından biri, tedaviye dirençli kanser hücrelerini hedefleyen sentetik miRNA'ların, nanoteknoloji ve ekzozom tabanlı akıllı taşıyıcı sistemlerle doğrudan tümör dokusuna ulaştırılmasının klinik faz aşamalarında optimize edilmesidir. Ayrıca, tümörden kana karışan dolaşımdaki miRNA profillerinin likit biyopsi yöntemleriyle izlenmesi, hastaların güncel miRNA haritalarının çıkarılması, kemodirencin ve MRD'nin henüz klinik nüks ortaya çıkmadan hücresel düzeyde tespit edilmesini sağlama potansiyelindedir.

## **6. SONUÇ**

Sonuç olarak, kanser hücrelerinin kemoterapi ve radyoterapiye karşı geliştirdiği direnç, sadece statik genetik mutasyonların bir sonucu değil, miRNA'ların yönettiği dinamik ve hücresel epigenetik adaptasyonların bir eseridir. Güncel literatür ışığında miRNA'lar, DDR modülasyonundan hücresel ilaç dışa atım pompalarının aktivasyonuna, apoptozdan kaçış mekanizmalarından koruyucu otofajinin tetiklenmesine ve kanser kök hücrelerinin korunmasına kadar çoklu ilaç direncinin her aşamasında rol oynamaktadır. miRNA'ların bu karmaşık direnç

mekanizmalarındaki rolünün tam olarak aydınlatılması ve yenilikçi terapötik hedefler olarak kliniğe entegre edilmesi, kanser tedavisindeki en büyük engel olan direnç problemini aşarak hastalara kalıcı, başarılı ve kişiselleştirilmiş bir remisyon sunmanın en güçlü anahtarıdır.

## **KAYNAKÇA**

- Acunzo, M., Romano, G., Wernicke, D., & Croce, C. M. (2015). MicroRNA and cancer - A brief overview. *Içinde Advances in Biological Regulation*. <https://doi.org/10.1016/j.jbior.2014.09.013>
- Al-Hawary, S. I. S., Abdalkareem Jasim, S., Altalbawy, F. M. A., Kumar, A., Kaur, H., Pramanik, A., Jawad, M. A., Alsaad, S. B., Mohmmmed, K. H., & Zwamel, A. H. (2024). miRNAs in radiotherapy resistance of cancer; a comprehensive review. *Cell Biochemistry and Biophysics* 2024 82:3, 82(3), 1665–1679. <https://doi.org/10.1007/s12013-024-01329-2>
- Bagnoli, M., Nicoletti, R., Valitutti, M., Rizzo, A., Napoli, A., Montalvão De Azevedo, R., Tomassetti, A., & Mezzanzanica, D. (2022). Impairment of RAD17 Functions by miR-506-3p as a Novel Synthetic Lethal Approach Targeting DNA Repair Pathways in Ovarian Cancer. *Frontiers in Oncology*, 12, 923508. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.923508>
- Bartel, D. P. (2004). MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function. *Içinde Cell*. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(04\)00045-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(04)00045-5)
- Bommer, G. T., Gerin, I., Feng, Y., Kaczorowski, A. J., Kuick, R., Love, R. E., Zhai, Y., Giordano, T. J., Qin, Z. S., Moore, B. B., MacDougald, O. A., Cho, K. R., & Fearon, E. R. (2007). p53-Mediated Activation of miRNA34 Candidate Tumor-Suppressor Genes. *Current Biology*, 17(15), 1298–1307. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.06.068>
- Bonetti, P., Climent, M., Panebianco, F., Tordonato, C., Santoro, A., Marzi, M. J., Pelicci, P. G., Ventura, A., & Nicassio,

- F. (2018). Dual role for miR-34a in the control of early progenitor proliferation and commitment in the mammary gland and in breast cancer. *Oncogene* 2018 38:3, 38(3), 360–374. <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0445-3>
- Calin, G. A., Dumitru, C. D., Shimizu, M., Bichi, R., Zupo, S., Noch, E., Aldler, H., Rattan, S., Keating, M., Rai, K., Rassenti, L., Kipps, T., Negrini, M., Bullrich, F., & Croce, C. M. (2002). Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. <https://doi.org/10.1073/pnas.242606799>
- Chen, S., Wu, J., Jiao, K., Wu, Q., Ma, J., Chen, D., Kang, J., Zhao, G., Shi, Y., Fan, D., & Zhao, G. (2018). MicroRNA-495-3p inhibits multidrug resistance by modulating autophagy through GRP78/mTOR axis in gastric cancer. *Cell Death & Disease* 2018 9:11, 9(11), 1070-. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0950-x>
- Crosby, M. E., Kulshreshtha, R., Ivan, M., & Glazer, P. M. (2009). MicroRNA Regulation of DNA Repair Gene Expression in Hypoxic Stress. *Cancer research*, 69(3), 1221. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-2516>
- Dallavalle, C., Albino, D., Civenni, G., Merulla, J., Ostano, P., Mello-Grand, M., Rossi, S., Losa, M., D'Ambrosio, G., Sessa, F., Thalmann, G. N., Garcia-Escudero, R., Zitella, A., Chiorino, G., Catapano, C. V., & Carbone, G. M. (2016). MicroRNA-424 impairs ubiquitination to activate STAT3 and promote prostate tumor progression. *The Journal of Clinical Investigation*, 126(12), 4585–4602. <https://doi.org/10.1172/JCI86505>
- Espinosa-Diez, C., Wilson, R., Chatterjee, N., Hudson, C., Ruhl, R., Hipfinger, C., Helms, E., Khan, O. F., Anderson, D.

- G., & Anand, S. (2018). MicroRNA regulation of the MRN complex impacts DNA damage, cellular senescence, and angiogenic signaling. *Cell Death & Disease* 2018 9:6, 9(6), 632-.  
<https://doi.org/10.1038/s41419-018-0690-y>
- Garzon, R., Calin, G. A., & Croce, C. M. (2009). MicroRNAs in cancer. İçinde *Annual Review of Medicine*.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.med.59.053006.104707>
- Gupta, S., Panda, P. K., Hashimoto, R. F., Samal, S. K., Mishra, S., Verma, S. K., Mishra, Y. K., & Ahuja, R. (2022). Dynamical modeling of miR-34a, miR-449a, and miR-16 reveals numerous DDR signaling pathways regulating senescence, autophagy, and apoptosis in HeLa cells. *Scientific Reports* 2022 12:1, 12(1), 4911-.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-08900-y>
- He, C., Dong, X., Zhai, B., Jiang, X., Dong, D., Li, B., Jiang, H., Xu, S., & Sun, X. (2015). MiR-21 mediates sorafenib resistance of hepatocellular carcinoma cells by inhibiting autophagy via the PTEN/Akt pathway. *Oncotarget*, 6(30), 28867. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4814>
- Ho, P. T. B., Clark, I. M., & Le, L. T. T. (2022). MicroRNA-Based Diagnosis and Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(13).  
<https://doi.org/10.3390/IJMS23137167>,
- Horak, J., Dolnikova, A., Cumaogullari, O., Cumova, A., Navvabi, N., Vodickova, L., Levy, M., Schneiderova, M., Liska, V., Andera, L., Vodicka, P., & Opattova, A. (2022). MiR-140 leads to MRE11 downregulation and ameliorates oxaliplatin treatment and therapy response in colorectal cancer patients. *Frontiers in Oncology*, 12, 959407. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.959407>

- Hu, H., Du, L., Nagabayashi, G., Seeger, R. C., & Gatti, R. A. (2010). ATM is down-regulated by N-Myc-regulated microRNA-421. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(4), 1506–1511. <https://doi.org/10.1073/pnas.0907763107>
- Jiang, J., Feng, X., Zhou, W., Wu, Y., & Yang, Y. (2016). MiR-128 reverses the gefitinib resistance of the lung cancer stem cells by inhibiting the c-met/PI3K/AKT pathway. *Oncotarget*, 7(45), 73188. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12283>
- Jing, Y., Liang, W., Liu, J., Zhang, L., Wei, J., Yang, J., Zhang, Y., & Huang, Z. (2020). Autophagy-mediating microRNAs in cancer chemoresistance. *Cell Biology and Toxicology*, 36(6), 517–536. <https://doi.org/10.1007/s10565-020-09553-1>
- Khan, A. Q., Ahmed, E. I., Elareer, N. R., Junejo, K., Steinhoff, M., & Uddin, S. (2019). Role of miRNA-Regulated Cancer Stem Cells in the Pathogenesis of Human Malignancies. *Cells* 2019, Vol. 8, 8(8). <https://doi.org/10.3390/cells8080840>
- Li, B., Lu, Y., Yu, L., Han, X., Wang, H., Mao, J., Shen, J., Wang, B., Tang, J., Li, C., & Song, B. (2017). miR-221/222 promote cancer stem-like cell properties and tumor growth of breast cancer via targeting PTEN and sustained Akt/NF- $\kappa$ B/COX-2 activation. *Chemico-Biological Interactions*, 277(1), 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.08.014>
- Li, H., & Yang, B. B. (2013). Friend or foe: the role of microRNA in chemotherapy resistance. *Acta Pharmacologica Sinica* 2013 34:7, 34(7), 870–879. <https://doi.org/10.1038/aps.2013.35>

- Li, Y., Tong, Y., Liu, J., & Lou, J. (2022). The Role of MicroRNA in DNA Damage Response. *Frontiers in Genetics*, 13, 850038. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.850038>
- Lian, M., Mortoglou, M., & Uysal-Onganer, P. (2023). Impact of Hypoxia-Induced miR-210 on Pancreatic Cancer. *Current Issues in Molecular Biology* 2023, Vol. 45, Pages 9778-9792, 45(12), 9778–9792. <https://doi.org/10.3390/cimb45120611>
- Marine, J. C., Dawson, S. J., & Dawson, M. A. (2020). Non-genetic mechanisms of therapeutic resistance in cancer. *Nature Reviews Cancer* 2020 20:12, 20(12), 743–756. <https://doi.org/10.1038/s41568-020-00302-4>
- McIntyre, G., Jackson, Z., Colina, J., Sekhar, S., & DiFeo, A. (2024). miR-181a: regulatory roles, cancer-associated signaling pathway disruptions, and therapeutic potential. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 28(12), 1061–1091. <https://doi.org/10.1080/14728222.2024.2433687>
- Meng, F., Qian, L., Lv, L., Ding, B., Zhou, G., Cheng, X., Niu, S., & Liang, Y. (2016). miR-193a-3p regulation of chemoradiation resistance in oesophageal cancer cells via the PSEN1 gene. *Gene*, 579(2), 139–145. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.12.060>
- Mohammadi, F., Nejatollahi, M., Sheikhnia, F., Ebrahimi, Y., Mohammadi, M., Rashidi, V., Alizadeh-Fanalou, S., Azizzadeh, B., & Majidinia, M. (2025). MiRNAs: main players of cancer drug resistance target ABC transporters. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 2025 398:6, 398(6), 6239–6291. <https://doi.org/10.1007/s00210-024-03719-y>
- Najafi, F., Kelaye, S. K., Kazemi, B., Foruzandeh, Z., Allahverdizadeh, F., Vakili, S., Rad, K. K., Derakhshani,

- M., Solali, S., & Alivand, M. R. (2022). The role of miRNA-424 and miR-631 in various cancers: Focusing on drug resistance and sensitivity. *Pathology - Research and Practice*, 239(69), 154130. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2022.154130>
- Ren, D., Lin, B., Zhang, X., Peng, Y., Ye, Z., Ma, Y., Liang, Y., Cao, L., Li, X., Li, R., Sun, L., Liu, Q., Wu, J., Zhou, K., & Zeng, J. (2017). Maintenance of cancer stemness by miR-196b-5p contributes to chemoresistance of colorectal cancer cells via activating STAT3 signaling pathway. *Oncotarget*, 8(30), 49807. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17971>
- Shen, G., Li, X., Jia, Y. F., Piazza, G. A., & Xi, Y. (2013). Hypoxia-regulated microRNAs in human cancer. *Acta Pharmacologica Sinica* 2013 34:3, 34(3), 336–341. <https://doi.org/10.1038/aps.2012.195>
- Sun, X., Xu, C., Xiao, G., Meng, J., Wang, J., Tang, S. C., Qin, S., Du, N., Li, G., Ren, H., & Liu, D. (2018). Breast cancer stem-like cells are sensitized to tamoxifen induction of self-renewal inhibition with enforced Let-7c dependent on Wnt blocking. *International Journal of Molecular Medicine*, 41(4), 1967–1975. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3388>
- Valeri, N., Gasparini, P., Braconi, C., Paone, A., Lovat, F., Fabbri, M., Sumani, K. M., Alder, H., Amadori, D., Patel, T., Nuovo, G. J., Fishel, R., & Croce, C. M. (2010). MicroRNA-21 induces resistance to 5-fluorouracil by down-regulating human DNA MutS homolog 2 (hMSH2). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(49), 21098–21103. <https://doi.org/10.1073/pnas.1015541107>

- Valeri, N., Gasparini, P., Fabbri, M., Braconi, C., Veronese, A., Lovat, F., Adair, B., Vannini, I., Fanini, F., Bottoni, A., Costinean, S., Sandhu, S. K., Nuovo, G. J., Alder, H., Gafa, R., Calore, F., Ferracin, M., Lanza, G., Volinia, S., ... Croce, C. M. (2010). Modulation of mismatch repair and genomic stability by miR-155. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(15), 6982. <https://doi.org/10.1073/pnas.1002472107>
- Vandewalle, V., Essaghir, A., Bollaert, E., Lenglez, S., Graux, C., Schoemans, H., Saussoy, P., Michaux, L., Valk, P. J. M., Demoulin, J. B., & Havelange, V. (2021). miR-15a-5p and miR-21-5p contribute to chemoresistance in cytogenetically normal acute myeloid leukaemia by targeting PDCD4, ARL2 and BTG2. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 25(1), 575–585. <https://doi.org/10.1111/jcmm.16110>
- Wang, Yanqing, Chen, G., Dai, F., Zhang, L., Yuan, M., Yang, D., Liu, S., & Cheng, Y. (2021). Mir-21 induces chemoresistance in ovarian cancer cells via mediating the expression and interaction of cd44v6 and p-gp. *OncoTargets and Therapy*, 14, 325–336. <https://doi.org/10.2147/OTT.S286639>
- Wang, Yimei, Tu, M. J., & Yu, A. M. (2024). Efflux ABC transporters in drug disposition and their posttranscriptional gene regulation by microRNAs. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1423416. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1423416>
- Wouters, M. D., van Gent, D. C., Hoeijmakers, J. H. J., & Pothof, J. (2011). MicroRNAs, the DNA damage response and cancer. *Mutation Research - Fundamental and Molecular*

*Mechanisms of Mutagenesis*, 717(1–2), 54–66.  
<https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2011.03.012>

- Xiong, J., Wang, D., Wei, A., Ke, N., Wang, Y., Tang, J., He, S., Hu, W., & Liu, X. (2017). MicroRNA-410-3p attenuates gemcitabine resistance in pancreatic ductal adenocarcinoma by inhibiting HMGB1-mediated autophagy. *Oncotarget*, 8(64), 107500. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.22494>
- Xu, N., Zhang, J., Shen, C., Luo, Y., Xia, L., Xue, F., & Xia, Q. (2012). Cisplatin-induced downregulation of miR-199a-5p increases drug resistance by activating autophagy in HCC cell. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 423(4), 826–831. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.06.048>
- Yang, X., Bai, F., Xu, Y., Chen, Y., & Chen, L. (2017). Intensified Beclin-1 Mediated by Low Expression of Mir-30a-5p Promotes Chemoresistance in Human Small Cell Lung Cancer. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 43(3), 1126–1139. <https://doi.org/10.1159/000481754>
- Yin, Q. H., Zhou, Y., & Li, Z. Y. (2021). miR-373 Suppresses Cell Proliferation and Apoptosis via Regulation of SIRT1/PGC-1 $\alpha$ /NRF2 Axis in Pancreatic Cancer. *Cell Journal (Yakhteh)*, 23(2), 199. <https://doi.org/10.22074/cellj.2021.7038>
- Zhang, B., Pan, X., Cobb, G. P., & Anderson, T. A. (2007). microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *İçinde Developmental Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2006.08.028>
- Zhang, K., Chen, J., Zhou, H., Chen, Y., Zhi, Y., Zhang, B., Chen, L., Chu, X., Wang, R., & Zhang, C. (2018). PU.1/microRNA-142-3p targets ATG5/ATG16L1 to

inactivate autophagy and sensitize hepatocellular carcinoma cells to sorafenib. *Cell Death & Disease* 2018 9:3, 9(3), 312-. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0344-0>

Zhao, J., Nie, Y., Wang, H., & Lin, Y. (2016). miR-181a suppresses autophagy and sensitizes gastric cancer cells to cisplatin. *Gene*, 576(2), 828–833. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.11.013>

Zou, Z., Wu, L., Ding, H., Wang, Y., Zhang, Y., Chen, X., Chen, X., Zhang, C. Y., Zhang, Q., & Zen, K. (2012). MicroRNA-30a sensitizes tumor cells to cis-platinum via suppressing beclin 1-mediated autophagy. *Journal of Biological Chemistry*, 287(6), 4148–4156. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.307405>

# glycoRNA BİYOLOJİSİ

**Zübeyde YALNIZ KAYIM<sup>1</sup>**

## 1. GİRİŞ

Hüresel makromoleküllerin fonksiyonlarını düzenleyen en önemli biyokimyasal modifikasyonlardan biri glikozilasyondur (Varki et al., 2017). Glikozilasyon uzun yıllar boyunca proteinler ve lipitlerle sınırlı bir süreç olarak kabul edilmiş ve hücre yüzeyindeki karbonhidrat yapıların büyük ölçüde glikoproteinler ve glikolipitler üzerinde bulunduğu düşünülmüştür (Reily et al., 2019). Bu yapılar hücre adezyonu, reseptör–ligand etkileşimleri, hücreler arası iletişim ve bağışıklık sistemi tanıma mekanizmalarında önemli rol oynamaktadır (Crocker et al., 2007). Bununla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalar RNA moleküllerinin de glikan yapıları ile modifiye edilebildiğini göstermiştir ve bu yeni moleküler sınıf glycoRNA (glikan bağlı RNA) olarak adlandırılmıştır (Flynn et al., 2021). Bu keşif, RNA biyolojisi ile glikobiyoloji alanlarının kesişiminde yeni bir araştırma alanının ortaya çıkmasına neden olmuştur (Bertozi & Flynn, 2021).

glycoRNA kavramı ilk kez Flynn ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği kapsamlı bir çalışmada tanımlanmıştır (Flynn et al., 2021). Bu çalışmada araştırmacılar metabolik glikan etiketleme ve biyokimyasal analiz yöntemlerini kullanarak bazı RNA moleküllerinin sialik asit içeren N-bağlı glikan yapıları taşıyabildiğini göstermiştir (Flynn et al., 2021; Bertozi & Flynn, 2021). Ayrıca bu RNA moleküllerinin hücre yüzeyinde lokalize

---

<sup>1</sup> Dr. İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilimdalı, ORCID: 0000-0002-3137-051X.

olabildiği ve klasik olarak yalnızca proteinler ve lipitler ile ilişkilendirilen glikozilasyon sũreçlerinin RNA molekũllerini de kapsayabileceği ortaya konmuştur (Flynn et al., 2021; Varki et al., 2017). Bu bulgu hũcre yũzeyi biyolojisine ilişkin geleneksel paradigmayı ˆnemli ˆlçũde genişletmiş ve hũcre yũzeyinde bulunan RNA molekũllerinin hũcre sel iletişim ve molekũler tanıma sũreçlerinde rol oynayabileceğini dũřũndũrmũřtũr (Bertozzi & Flynn, 2021). ˆzellikle sialik asit içeren glikan yapıların bağışıklık hũcrelerinde bulunan Siglec reseptˆrleri tarafından tanınabilmesi, glycoRNA'ların bağışıklık sistemi ile etkileşim potansiyeline sahip olabileceğini gˆstermekte ve bu molekũllerin immũn dũzenleme mekanizmalarında rol oynayabileceğini dũřũndũrmektedir (Crocker et al., 2007; Varki et al., 2017).

glycoRNA'ların keşfi yalnızca yeni bir biyomolekũl sınıfının tanımlanmasını sağlamamış, aynı zamanda hũcre yũzeyi biyolojisi, immũnoloji ve kanser araştırmaları açısından ˆnemli yeni araştırma sorularının ortaya çıkmasına yol açmıştır. Hũcre yũzeyinde bulunan glikan yapıların bağışıklık sistemi tarafından tanınabildiği uzun zamandır bilinmektedir ve bu yapıların immũn hũcreler ile diğer hũcreler arasındaki iletişimin dũzenlenmesinde ˆnemli rol oynadığı gˆsterilmiřtir (Paulson et al., 2012). Bu bağlamda, sialik asit içeren glikanların ˆzellikle bağışıklık hũcrelerinde bulunan Siglec (Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectins) reseptˆrleri tarafından tanınması, hũcre yũzeyindeki glikan yapıların immũn yanıtın dũzenlenmesinde kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (Pearce & Läubli, 2016). glycoRNA molekũllerinin de sialik asit içeren glikan yapıları taşıyabildiğinin gˆsterilmesi, bu RNA tũrlerinin Siglec reseptˆrleri ile etkileşime girerek bağışıklık sistemi dũzenlenmesinde rol oynayabileceğini dũřũndũrmektedir. Bu etkileşimlerin ˆzellikle tũmˆr mikroçevresinde immũn baskılanma mekanizmalarına katkıda

bulunabileceği ve kanser hücrelerinin bağışıklık sisteminden kaçışında rol oynayabileceği öne sürölmektedir (Rodrigues et al., 2018).

## **2. GLİKOZİLASYONUN BİYOLOJİK ÖNEMİ**

Glikozilasyon, ökaryotik hücrelerde gerçekteşen en yaygın ve fonksiyonel açıdan en önemli post-translasyonel modifikasyonlardan biridir. Proteinlerin ve lipitlerin karbonhidrat zincirleri ile modifiye edilmesi yalnızca moleküler yapıların stabilitesini sağlamakla kalmaz, aynı zamanda hücre sel sinyal iletimi, protein katlanması ve hücreler arası iletişim gibi çok sayıda biyolojik sürecin düzenlenmesinde kritik rol oynar (Apweiler et al., 1999; Ohtsubo ve Marth, 2006). Hücre yüzeyinde bulunan glikan yapıları, hücrelerin çevrelerini algılamasını sağlayan önemli moleküler işaretler oluşturur. Bu karbonhidrat zincirleri hücre adezyonu, reseptör–ligand etkileşimleri ve hücreler arası iletişim süreçlerinde aktif rol oynar ve özellikle bağışıklık sistemi tarafından patojenlerin veya anormal hücrelerin tanınmasında önemli bir moleküler tanıma mekanizması sağlar (Varki, 2017; Schnaar, 2015).

Glikozilasyon biyokimyasal olarak başlıca iki temel sınıfa ayrılır: N-bağlı glikozilasyon ve O-bağlı glikozilasyon. N-bağlı glikozilasyon, glikan zincirlerinin proteinlerdeki asparajin kalıntılara bağlanmasıyla gerçekteşir ve bu süreç genellikle endoplazmik retikulumda başlar. İlk olarak lipit taşıyıcı dolikol üzerinde sentezlenen oligosakkarit yapı proteinlere aktarılır ve daha sonra Golgi aygıtında çeşitli enzimatik modifikasyonlar ile kompleks glikan yapıları oluşturulur (Helenius & Aebi, 2004). Buna karşılık O-bağlı glikozilasyon, glikan zincirlerinin serin veya treonin kalıntılara bağlanmasıyla meydana gelir ve büyük ölçüde Golgi aygıtında gerçekteşir. O-glikozilasyon özellikle bazı proteinlerinde ve hücre yüzeyi reseptörlerinde önemli bir

düzenleyici rol oynar ve hücre yüzeyindeki moleküler etkileşimlerin çeşitliliğini artırır (Schjoldager et al., 2020).

Glikozilasyon yalnızca yapısal bir modifikasyon değil, aynı zamanda hücre yüzeyindeki biyolojik bilginin taşınmasında görev alan önemli bir moleküler kod olarak da değerlendirilmektedir. Özellikle terminal bölgelerinde bulunan sialik asit içeren glikan yapıları, bağışıklık sistemi tarafından tanınabilen önemli sinyal molekülleri oluşturur. Bu yapılar bağışıklık hücrelerinde bulunan Siglec (sialic acid-binding immunoglobulin-like lectins) reseptörleri tarafından tanınarak immün yanıtın düzenlenmesinde rol oynar. Siglec reseptörleri çoğunlukla inhibitör sinyaller üretir ve bağışıklık sisteminin aşırı aktivasyonunu önleyen önemli kontrol mekanizmalarının bir parçasıdır (Macauley et al., 2014; Schnaar et al., 2014).

Glikozilasyon paternlerinde meydana gelen değişiklikler birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Özellikle kanser hücrelerinde glikozilasyon profilinin önemli ölçüde değiştiği ve bu değişikliklerin tümör progresyonu ile metastaz süreçlerinde rol oynadığı gösterilmiştir. Kanser hücrelerinde sialilasyon ve fukozilasyon gibi glikan modifikasyonlarının artması tümör hücrelerinin bağışıklık sisteminden kaçmasına ve tümör mikroçevresinin yeniden şekillenmesine katkıda bulunabilir (Munkley & Elliott, 2016; Pinho & Reis, 2015). Bu nedenle glikozilasyon günümüzde yalnızca temel hücre biyolojisinin bir konusu değil, aynı zamanda kanser biyolojisi, immünoloji ve translasyonel tıp alanlarında önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir (Rodrigues et al., 2018).

### **3. RNA BİYOLOJİSİNİN GENİŞLEYEN ROLÜ**

RNA molekülleri hücresel gen ekspresyonunun temel bileşenlerinden biridir. Uzun yıllar boyunca RNA'nın biyolojik rolü, DNA'daki genetik bilginin proteine aktarılmasını sağlayan

bir ara moleköl olmakla sınırlı görölmüştür. Ancak son birkaç on yılda yapılan alışmalar RNA'nın yalnızca bilgi taşıyan bir moleköl olmadığını, aynı zamanda gen ekspresyonunun düzenlenmesinde aktif rol oynayan dinamik bir biyomolekül olduğunu ortaya koymuştur. Günümüzde RNA moleküllerinin transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel düzenleme, epigenetik kontrol, kromatin organizasyonu ve hücrenel sinyal iletimi gibi birçok biyolojik süreçte görev aldığı bilinmektedir (Cech & Steitz, 2014; Doudna & Cech, 2002).

Hücrenel RNA repertuarı oldukça çeşitlidir. Klasik olarak protein sentezinde görev alan messenger RNA (mRNA), transfer RNA (tRNA) ve ribozomal RNA (rRNA) moleküllerinin yanı sıra, son yıllarda çok sayıda non-coding RNA (ncRNA) sınıfı tanımlanmıştır. MikroRNA (miRNA), uzun non-coding RNA (lncRNA), small nuclear RNA (snRNA) ve small nucleolar RNA (snoRNA) gibi RNA türleri gen ekspresyonunun farklı basamaklarında düzenleyici rol oynar. Bu RNA molekülleri transkripsiyonel baskılama, RNA işlenmesi, kromatin yeniden düzenlenmesi ve translasyon kontrolü gibi mekanizmalar aracılığıyla hücrenel fonksiyonların hassas bir şekilde düzenlenmesine katkıda bulunur (Esteller, 2011; Quinn & Chang, 2016).

RNA biyolojisindeki önemli gelişmelerden biri de RNA üzerinde bulunan kimyasal modifikasyonların keşfidir. Günümüzde RNA molekülleri üzerinde 170'den fazla kimyasal modifikasyon tanımlanmıştır. Bu modifikasyonlar RNA stabilitesi, RNA katlanması, translasyon verimliliği ve RNA-protein etkileşimleri üzerinde belirleyici etkilere sahiptir. RNA üzerindeki bu kimyasal değişikliklerin oluşturduğu düzenleyici katman epitranskriptom olarak adlandırılmaktadır. Epitranskriptom, gen ekspresyonunun dinamik olarak düzenlenmesini sağlayan önemli bir moleköl kontrol

mekanizması olarak kabul edilmektedir (Roundtree et al., 2017; Nachtergaele & He, 2018).

Epitranskriptom alanındaki en iyi karakterize edilmiş modifikasyonlardan biri N6-metiladenozin (m6A) modifikasyonudur. Bunun yanı sıra pseudouridin, 5-metilsitozin ve inosine gibi birçok farklı RNA modifikasyonu da tanımlanmıştır ve bu modifikasyonların gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Dominissini et al., 2012). Son yıllarda tanımlanan glycoRNA kavramı ise epitranskriptom alanına yeni bir boyut kazandırmıştır. glycoRNA'ların keşfi RNA moleküllerinin yalnızca küçük kimyasal gruplarla değil, aynı zamanda kompleks karbonhidrat zincirleri ile de modifiye edilebildiğini ortaya koymuştur. Bu durum RNA biyolojisi ile glikobiyoloji arasında beklenmedik bir bağlantı olduğunu göstermekte ve hücre yüzeyindeki moleküler etkileşimlerin anlaşılmasına yeni bir perspektif kazandırmaktadır (Flynn et al., 2021).

#### **4. glycoRNA'NIN KEŞFİ VE TANIMLANMASI**

glycoRNA kavramı ilk olarak Flynn ve arkadaşlarının 2021 yılında yayımlanan öncü çalışmasında tanımlanmıştır. Bu çalışmada araştırmacılar metabolik şeker etiketleme stratejileri kullanarak hücre yüzeyindeki glikan yapıların dağılımını sistematik olarak incelemiş ve beklenmedik bir şekilde bazı RNA moleküllerinin de glikan yapıları taşıdığını göstermiştir (Flynn et al., 2021). Bu bulgu, glikozilasyonun yalnızca proteinler ve lipitlerle sınırlı olmadığına ve RNA moleküllerinin de karbonhidrat zincirleri ile modifiye edilebileceğine işaret ederek hücre yüzeyi biyolojisi hakkındaki klasik anlayışı önemli ölçüde genişletmiştir (Bertozi & Flynn, 2021).

Araştırmada glycoRNA'ların tespit edilmesi ve karakterizasyonu için birden fazla biyokimyasal ve moleküler

yöntem birlikte kullanılmıştır. Metabolik glikan etiketleme yaklaşımları ve RNA izolasyonu ve ileri düzey kütle spektrometrisi analizleri glycoRNA varlığının doğrulanmasında kritik rol oynamıştır. Bu yöntemler, RNA moleküllerine bağlı glikan yapıların doğrudan gösterilmesine olanak sağlamış ve glycoRNA'ların hücre yüzeyinde lokalize olabildiğini ortaya koymuştur (Flynn et al., 2021; Hudak & Bertozzi, 2014).

Yapılan moleküler analizler glycoRNA'ların büyük ölçüde küçük non-coding RNA (ncRNA) sınıfına ait moleküllerden oluştuğunu göstermiştir. Özellikle small nuclear RNA (snRNA), small nucleolar RNA (snoRNA) ve Y RNA gibi RNA türlerinin glikan modifikasyonları taşıyabildiği belirlenmiştir. Bu RNA molekülleri genellikle RNA işlenmesi, ribozomal RNA olgunlaşması ve hücresel RNA metabolizması gibi süreçlerde görev alan düzenleyici RNA'lar olarak bilinmektedir (Flynn et al., 2021; Kiss, 2002). Bu bulgular glycoRNA'ların yalnızca yapısal bir modifikasyon değil, aynı zamanda RNA biyolojisinde yeni bir moleküler sınıfı temsil edebileceğini göstermektedir. Ayrıca bu keşif, RNA moleküllerinin hücre yüzeyindeki moleküler tanıma süreçlerine katılabileceğini ve immün sistem ile hücreler arası iletişimde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Bertozzi & Flynn, 2021).

## **5. glycoRNA'NIN YAPISAL ÖZELLİKLERİ**

glycoRNA'lar, RNA moleküllerine kovalent olarak bağlı kompleks karbonhidrat zincirleri içeren yeni bir biyomolekül sınıfını temsil etmektedir. İlk çalışmalar bu glikan yapıların çoğunlukla N-bağlı (N-linked) glikanlar olduğunu ve terminal bölgelerinde sıklıkla sialik asit içeren oligosakkarit yapıların bulunduğunu göstermiştir (Flynn et al., 2021). Bu durum, klasik olarak proteinlere özgü olduğu düşünölen N-glikozilasyon mekanizmalarının RNA moleküllerini de kapsayabileceğini

ortaya koyarak glikobiyoloji alanındaki mevcut anlayışı genişletmiştir. Yapılan glikomik ve biyokimyasal analizler, glycoRNA'ların taşıdığı glikanların kompleks ve hibrit tipte N-glikan yapıları ierebildiğini ve bu yapıların hücre yüzeyindeki glikan repertuarının önemli bir parçasını oluşturabileceğini göstermektedir (Bertozzi & Flynn, 2021; Varki et al., 2017).

Glikan yapıların terminal bölgelerinde bulunan sialik asit kalıntıları, hücre yüzeyinde gerçekleşen moleküler tanıma süreçlerinde kritik rol oynar. Sialik asitler özellikle hücreler arası etkileşimlerde, reseptör bağlanmalarında ve bağışıklık sistemi sinyalizasyonunda önemli biyolojik fonksiyonlara sahiptir (Schnaar et al., 2014; Pearce & Lubli, 2016). Bu nedenle sialilasyon, hücre yüzeyindeki moleküler iletişim ağının önemli bir düzenleyicisi olarak kabul edilmektedir. glycoRNA'ların da bu tür terminal sialik asit içeren glikan yapıları taşıması, bu moleküllerin hücreSEL tanıma mekanizmalarına katılabileceğini düşündürmektedir.

Sialik asit içeren glikan yapılarının en önemli biyolojik özelliklerinden biri bağışıklık sistemi tarafından tanınabilmesidir. Özellikle bağışıklık hücrelerinde bulunan Siglec (Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectins) reseptörleri sialilize glikan yapılarını tanıyabilen özel reseptör ailesini oluşturur (Crocker et al., 2007). Siglec reseptörleri çoğunlukla inhibitör sinyaller üretir ve bağışıklık sisteminin aşırı aktivasyonunu önleyen düzenleyici mekanizmaların bir parçasıdır (Macauley et al., 2014). Bu reseptörlerin sialik asit içeren glikanlara bağlanması immün hücrelerin aktivitesini modüle edebilir ve immün toleransın sürdürülmesine katkıda bulunabilir.

Bu bağlamda glycoRNA'ların sialilize glikan yapıları taşıması, bu moleküllerin Siglec reseptörleri ile etkileşime girebileceğini ve bağışıklık sistemi sinyalizasyonunda rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Özellikle tümör

mikroçevresinde sialik asit içeren glikanların immün baskılanma mekanizmalarını güçlendirdiği bilinmektedir (Rodrigues et al., 2018). Dolayısıyla glycoRNA'ların hücre yüzeyinde yer alması ve sialilize glikan yapıları taşıması, bu moleküllerin hücreler arası iletişimde, immün yanıtın düzenlenmesinde ve potansiyel olarak tümör bağışıklığının şekillenmesinde rol oynayabilecek yeni bir moleküler platform oluşturabileceğini düşündürmektedir (Varki, 2017). Bu nedenle glycoRNA'ların yapısal özelliklerinin ve glikan kompozisyonlarının daha ayrıntılı şekilde incelenmesi, hücre yüzeyi biyolojisinin ve immün düzenleme mekanizmalarının anlaşılmasına önemli katkılar sağlayabilir.

## **6. glycoRNA VE BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ**

Bağışıklık sistemi hücre yüzeyinde bulunan karbonhidrat yapılarını tanıyabilen çok sayıda reseptör ailesine sahiptir. Bu reseptörlerden biri olan Siglec (Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectins) ailesi, terminal bölgelerinde sialik asit içeren glikan yapılarını tanıyabilen immün reseptörleri içerir. Siglec reseptörleri özellikle doğuştan gelen bağışıklık sistemi hücrelerinde yaygın olarak bulunur ve makrofajlar, dendritik hücreler, nötrofiller ve B hücreleri gibi immün hücrelerin yüzeyinde eksprese edilir. Bu reseptörlerin temel işlevlerinden biri, hücre yüzeyinde bulunan sialilize glikan yapılarını tanıyarak bağışıklık sisteminin kendi dokularına karşı aşırı yanıt vermesini engelleyen düzenleyici sinyaller üretmektir (Paulson et al., 2012). Bu nedenle Siglec reseptörleri çoğunlukla bağışıklık sisteminde inhibitör sinyalizasyonu tetikleyen ve immün toleransın korunmasına katkıda bulunan moleküler düzenleyiciler olarak kabul edilmektedir.

Siglec reseptörlerinin sitoplazmik bölgelerinde bulunan ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) motifleri, reseptör–ligand etkileşimi sonrasında SHP-1 ve SHP-2

gibi fosfatazların aktive olmasına yol açar ve bu durum immün hücre aktivasyonunun baskılanması ile sonuçlanır. Bu mekanizma bağışıklık sisteminin aşırı inflamatuvar yanıtlarını sınırlamak için önemli bir kontrol noktası oluşturur (Macauley et al., 2014). Dolayısıyla sialik asit içeren glikan yapıların Siglec reseptörleri ile etkileşimi bağışıklık sistemi homeostazisinin korunmasında kritik bir rol oynar.

Son yıllarda yapılan çalışmalar sialilize glikan yapıların yalnızca fizyolojik immün düzenleme süreçlerinde değil, aynı zamanda patolojik durumlarda da önemli rol oynadığını göstermiştir. Özellikle tümör hücrelerinin yüzeyinde sialik asit içeren glikanların artmış olarak bulunması, Siglec reseptörleri aracılığıyla bağışıklık hücrelerinin aktivitesini baskılayabilir ve tümör hücrelerinin immün sistemden kaçmasına katkıda bulunabilir (Läubli & Varki, 2020). Bu mekanizma tümör mikroçevresinde immün baskılanma oluşturabilen önemli bir moleküler yolak olarak tanımlanmıştır.

glycoRNA'ların sialik asit içeren glikan yapıları taşıyabildiğinin gösterilmesi, bu moleküllerin Siglec reseptörleri ile etkileşime girebileceğini düşündürmektedir. Hücre yüzeyinde lokalize olan glycoRNA'lar, potansiyel olarak Siglec reseptörleri için yeni ligandlar oluşturabilir ve böylece bağışıklık hücreleri ile hedef hücreler arasındaki iletişimde rol oynayabilir (Flynn et al., 2021). Bu bağlamda glycoRNA'ların immün hücrelerin aktivasyon durumunu modüle edebilecek yeni bir moleküler platform oluşturabileceği öne sürülmektedir.

Ayrıca sialik asit içeren glikan yapıların bağışıklık sistemi üzerindeki düzenleyici etkileri yalnızca Siglec reseptörleri ile sınırlı değildir. Sialilize glikanlar kompleman sistemi aktivasyonu, fagositoz ve antijen sunumu gibi çeşitli immün süreçleri de etkileyebilir (Schnaar et al., 2014). Bu nedenle glycoRNA'ların taşıdığı glikan yapıların bağışıklık sistemi ile

çok yönlü etkileşimlere girebileceği düşünölmektedir. glycoRNA'ların hücre yüzeyinde bulunması, bu moleküllerin hücreler arası iletişim, immün tanıma ve inflamatuvar yanıtların düzenlenmesi gibi süreçlerde potansiyel rol oynayabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak glycoRNA'ların sialilize glikan yapıları taşıması ve hücre yüzeyinde lokalize olabilmesi, bu moleküllerin bağışıklık sistemi ile etkileşime girebilecek yeni bir biyomoleküler sınıf oluşturduğunu düşöndürmektedir. glycoRNA–Siglec etkileşimlerinin ayrıntılı olarak incelenmesi, immün düzenleme mekanizmalarının anlaşılmasına katkıda bulunabileceği gibi, kanser immünoterapisi ve inflamatuvar hastalıkların tedavisi açısından da yeni hedeflerin ortaya çıkmasına olanak sağlayabilir (Pearce & Läubli, 2016).

Kanser gelişimi sırasında hücreSEL glikozilasyon paternlerinde önemli değişikliklerin meydana geldiği uzun zamandır bilinmektedir. Tümör hücreleri çoğu zaman normal hücrelere kıyasla farklı glikan yapıları üretir ve bu değişiklikler hücre adezyonu, hücre göğu, metastaz ve bağışıklık sistemi ile etkileşim gibi süreçleri doğrudan etkileyebilir. Özellikle tümör hücrelerinde glikozilasyon profillerinin yeniden programlanması, tümör progresyonunun ve metastatik yayılımın önemli bir belirleyicisi olarak kabul edilmektedir (Munkley & Elliott, 2016). Bu bağlamda kanser hücrelerinin yüzeyinde bulunan glikan yapıların yalnızca yapısal bir özellik olmadığı, aynı zamanda tümör hücrelerinin çevreleri ile kurduğu iletişimde aktif rol oynayan biyolojik sinyaller taşıdığı düşünölmektedir.

Kanser hücrelerinde en sık gözlenen glikozilasyon değişikliklerinden biri sialilasyon düzeyinin artmasıdır. Sialik asit içeren glikan yapıların artışı tümör hücrelerinin bağışıklık sistemi tarafından tanınmasını zorlaştırabilir ve bu durum tümör hücrelerinin immün sistemden kaçmasına katkıda bulunabilir.

Sialilize glikanların özellikle Siglec reseptörleri ile etkileşime girmesi, immün hücrelerin aktivitesini baskılayarak tümör mikroçevresinde immün tolerans oluşmasına yol açabilir (Pearce & Läubli, 2016). Bu mekanizma, tümör hücrelerinin bağışıklık sistemi tarafından ortadan kaldırılmasını engelleyen önemli bir immün kaçış stratejisi olarak kabul edilmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar tümör hücrelerinde glikozilasyon paternlerindeki değişikliklerin yalnızca proteinleri değil, aynı zamanda hücre yüzeyinde bulunan diğer biyomolekülleri de etkileyebileceğini göstermiştir. glycoRNA'ların keşfi bu açıdan önemli bir gelişme olarak değerlendirilmektedir. glycoRNA'ların sialik asit içeren glikan yapıları taşıyabilmesi, bu moleküllerin de tümör hücrelerinin yüzeyinde yer alarak bağışıklık sistemi ile etkileşim kurabileceğini düşündürmektedir (Flynn et al., 2021). Bu durum glycoRNA'ların tümör mikroçevresindeki moleküler iletişim ağının bir parçası olabileceğini ve immün düzenleme süreçlerinde rol oynayabileceğini göstermektedir.

## **7. glycoRNA VE KANSER**

Tümör mikroçevresi, kanser hücreleri, stromal hücreler, immün hücreler ve ekstraselüler matriks bileşenlerinden oluşan karmaşık bir biyolojik ortamdır. Bu mikroçevrede gerçekleşen hücreler arası iletişim, tümör büyümesi ve metastaz süreçlerinde belirleyici rol oynar. Hücre yüzeyinde bulunan glikan yapıların bu iletişim ağının önemli bir bileşeni olduğu bilinmektedir (Varki, 2017). Dolayısıyla glycoRNA'ların da hücre yüzeyinde bulunması, bu moleküllerin tümör hücreleri ile bağışıklık sistemi arasındaki etkileşimlerde rol oynayabilecek yeni bir moleküler katman oluşturabileceğini düşündürmektedir.

Ayrıca glikan yapılarının tümör hücrelerinin adezyon özelliklerini ve hücre göçünü etkileyebildiği de bilinmektedir. Bu

nedenle glycoRNA'ların taşıdığı glikan yapılarının tümör hücrelerinin metastatik potansiyelini etkileyebileceği öne sürölmektedir (Schjoldager et al., 2020). Bunun yanında sialilize glikanların immün baskılanma mekanizmalarını güçlendirebilmesi, glycoRNA'ların da tümör hücrelerinin immün kaçış stratejilerine katkıda bulunabileceği olasılığını gündeme getirmektedir.

Her ne kadar glycoRNA'ların kanser biyolojisindeki rolü henüz tam olarak aydınlatılmamış olsa da, mevcut bulgular bu moleküllerin tümör mikroçevresinde gerçekleşen hücreler arası iletişimde ve immün düzenleme süreçlerinde önemli rol oynayabileceğini düşündürmektedir. glycoRNA'ların tümör biyolojisindeki işlevlerinin daha ayrıntılı olarak incelenmesi, kanser gelişimi ve immün kaçış mekanizmalarının anlaşılmasına katkı sağlayabilir ve gelecekte yeni tanısal biyobelirteçlerin veya terapötik hedeflerin tanımlanmasına olanak sağlayabilir (Rodrigues et al., 2019).

## **8. GELECEK PERSPEKTİFLERİ**

glycoRNA'ların keşfi, RNA biyolojisi ve glikobiyoloji alanları arasında daha önce öngörölmeyen yeni bir moleküler bağlantıyı ortaya koymuştur. Hücre yüzeyinde glikan modifikasyonları taşıyan RNA moleküllerinin varlığı, hücreler arası iletişim, immün tanıma ve hücreysel sinyal iletim mekanizmalarının beklenenden daha karmaşık olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte glycoRNA'ların biyosentezi, hücre yüzeyine taşınma mekanizmaları ve farklı hücre tiplerindeki fonksiyonları henüz tam olarak aydınlatılmış değildir.

Gelecekte yapılacak çalışmaların özellikle glycoRNA'ların oluşum mekanizmalarının belirlenmesine, farklı dokulardaki dağılımlarının incelenmesine ve bağışıklık sistemi

ile etkileşimlerinin daha ayrıntılı olarak ortaya konmasına odaklanması beklenmektedir. Ayrıca glycoRNA'ların kanser, inflamatuvar hastalıklar ve bağışıklık sistemi bozuklukları gibi patolojik durumlarda oynadığı rolün araştırılması önemli bir araştırma alanı oluşturmaktadır. Bu moleküllerin tümör mikroçevresindeki immün düzenleme süreçlerine katkıda bulunup bulunmadığının anlaşılması, gelecekte yeni biyobelirteçlerin veya hedefe yönelik tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine olanak sağlayabilir. Bu nedenle glycoRNA'lar, hem temel biyoloji hem de translasyonel araştırmalar açısından gelecek yıllarda giderek daha fazla ilgi çekecek yeni bir araştırma alanı olarak değerlendirilmektedir.

## **KAYNAKÇA**

- Apweiler, R., Hermjakob, H., & Sharon, N. (1999). On the frequency of protein glycosylation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1473, 4–8.
- Bertozi, C. R., & Flynn, R. A. (2021). RNA meets glycobiology. *Cell*, 184, 4247–4249.
- Cech, T. R., & Steitz, J. A. (2014). The noncoding RNA revolution—Trashing old rules to forge new ones. *Cell*, 157, 77–94.
- Crocker, P. R., Paulson, J. C., & Varki, A. (2007). Siglecs and their roles in the immune system. *Nature Reviews Immunology*, 7, 255–266.
- Dominissini, D., Moshitch-Moshkovitz, S., Schwartz, S., et al. (2012). Topology of the human and mouse m6A RNA methylomes revealed by m6A-seq. *Nature*, 485, 201–206.
- Doudna, J. A., & Cech, T. R. (2002). The chemical repertoire of natural ribozymes. *Nature*, 418, 222–228.
- Esteller, M. (2011). Non-coding RNAs in human disease. *Nature Reviews Genetics*, 12, 861–874.
- Flynn, R. A., Pedram, K., Malaker, S. A., et al. (2021). Small RNAs are modified with N-glycans and displayed on the cell surface. *Cell*, 184, 3109–3124.
- Helenius, A., & Aebi, M. (2004). Roles of N-linked glycans in the endoplasmic reticulum. *Annual Review of Biochemistry*, 73, 1019–1049.
- Hudak, J. E., & Bertozi, C. R. (2014). Glycotherapy: New advances inspire a reemergence of glycans in medicine. *Chemistry & Biology*, 21, 16–37.

- Kiss, T. (2002). Small nucleolar RNAs: An abundant group of noncoding RNAs with diverse cellular functions. *Cell*, 109, 145–148.
- Läubli, H., & Varki, A. (2020). Sialic acids in cancer biology and immunity. *Glycobiology*, 30, 408–418.
- Macauley, M. S., Crocker, P. R., & Paulson, J. C. (2014). Siglec-mediated regulation of immune cell function in disease. *Nature Reviews Immunology*, 14, 653–666.
- Munkley, J., & Elliott, D. J. (2016). Hallmarks of glycosylation in cancer. *Oncotarget*, 7, 35478–35489.
- Nachtergaele, S., & He, C. (2018). Chemical modifications in the life of an RNA transcript. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 19, 31–44.
- Ohtsubo, K., & Marth, J. D. (2006). Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. *Cell*, 126, 855–867.
- Paulson, J. C., Macauley, M. S., & Kawasaki, N. (2012). Siglecs as sensors of self in innate and adaptive immune responses. *Annual Review of Immunology*, 30, 357–392.
- Pearce, O. M. T., & Läubli, H. (2016). Sialic acids in cancer biology and immunity. *Glycobiology*, 26, 111–128.
- Pinho, S. S., & Reis, C. A. (2015). Glycosylation in cancer: Mechanisms and clinical implications. *Nature Reviews Cancer*, 15, 540–555.
- Quinn, J. J., & Chang, H. Y. (2016). Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function. *Nature Reviews Genetics*, 17, 47–62.
- Reily, C., Stewart, T. J., Renfrow, M. B., & Novak, J. (2019). Glycosylation in health and disease. *Nature Reviews Nephrology*, 15, 346–366.

- Rodrigues, J. G., Balmaña, M., Macedo, J. A., et al. (2018). Glycosylation in cancer: Mechanisms and clinical implications. *Nature Reviews Cancer*, 18, 540–555.
- Rodrigues, J. G., Duarte, H. O., Gomes, C., & Reis, C. A. (2019). Glycosylation in cancer: Selected roles in tumour progression, immune modulation and metastasis. *Cellular Immunology*, 333, 46–57.
- Roundtree, I. A., Evans, M. E., Pan, T., & He, C. (2017). Dynamic RNA modifications in gene expression regulation. *Cell*, 169, 1187–1200.
- Schjoldager, K. T., Narimatsu, Y., Joshi, H. J., & Clausen, H. (2020). Global view of human protein glycosylation pathways and functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21, 729–749.
- Schnaar, R. L., Gerardy-Schahn, R., & Hildebrandt, H. (2014). Sialic acids in the brain: Gangliosides and polysialic acid in nervous system development, stability, disease, and regeneration. *Physiological Reviews*, 94(2), 461–518.
- Varki, A., Cummings, R. D., Esko, J. D., et al. (2017). *Essentials of glycobiology* (3rd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.

# TIBBİ BİYOLOJİ ALANINDA BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR

**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