TIBBİ BİYOKİMYA ALANINDA GÜNCEL KONULAR VE AKADEMİK DEĞERLENDİRMELER

Editör: Doç.Dr. Ayşegül OĞLAKÇI İLHAN

yaz
yayınları

Tıbbi Biyokimya Alanında
Güncel Konular ve Akademik Değerlendirmeler

Editör

Doç.Dr. Ayşegül OĞLAKÇI İLHAN

yaz yayınları

2026

yaz
yayınları

Tıbbi Biyokimya Alanında Güncel Konular ve Akademik Değerlendirmeler

Editör: Doç.Dr. Ayşegül OĞLAKÇI İLHAN

© 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 978-625-5450-31-9

Ekim 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

yazyayinlari@gmail.com

İÇİNDEKİLER

Artificial Intelligence in Liver Disease Diagnosis: A Narrative Review.....1
Muzaffer KATAR

Preanalitik Hataların Hasta Sonuçları Üzerine Etkisi ...21
Emel ÇOLAK SAMSUM

Vitamin D Metabolizması ve Klinik Önemi.....41
Naime ÇELİK

Plazma Hücre Hastalıklarındaki Monoklonal İmmünglobulinlerin Değerlendirilmesinde Laboratuvar Testleri 79
Nazife DOĞAN

Oksidatif Hasar ve Antioksidan Savunmanın Biyobelirteçleri: Laboratuvar Tıbbı Perspektifi.....98
Akile TUNCAL

Clinical Biochemistry Data and Artificial Intelligence...119
Tuğba Muhlise OKYAY

Anticancer Effects of Propolis and Its Polyphenolic Compounds: Molecular and Cellular Mechanisms.....136
Şehnaz Nisa YILDIRIM, Semra ALKAN TÜRKUÇAR

"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."

ARTIFICIAL INTELLIGENCE IN LIVER DISEASE DIAGNOSIS: A NARRATIVE REVIEW

Muzaffer KATAR[1]

1. INTRODUCTION

1.1. Introduction

Liver diseases encompass a broad range of acute and chronic disorders and remain a major public health problem. Progressive hepatocellular injury, inflammation, fibrosis, cirrhosis and HCC contribute substantially to mortality and disability.

Many liver disorders remain clinically silent during early stages. Increasing obesity, metabolic syndrome, diabetes, alcohol exposure and viral hepatitis have changed disease patterns and increased demand for accessible diagnostic strategies(Gan et al., 2025).

1.2. Global Epidemiology

International studies indicate that liver diseases affect hundreds of millions of people and are responsible for approximately two million deaths annually. The distribution varies according to socioeconomic conditions, healthcare access, viral hepatitis prevalence, alcohol consumption, obesity, lifestyle and genetic factors.

Chronic HBV remains a major cause of chronic liver disease and HCC in many low- and middle-income regions. In developed settings, MASLD has increased substantially with

[1] Doçent Dr., Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya, ORCID: 0000-0002-6296-2390.

obesity and insulin resistance. Alcohol-associated liver disease continues to contribute significantly to chronic liver-related mortality(Gan et al., 2025).

1.3. Major Categories of Liver Diseases

Viral Hepatitis. Chronic HBV and HCV remain leading causes of cirrhosis and HCC. Improved antiviral therapy has changed outcomes, but many infected individuals remain asymptomatic and are diagnosed late(Mauss et al., 2017).

Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease (MASLD). MASLD is strongly associated with obesity, dyslipidemia, hypertension, insulin resistance and type 2 diabetes. Its spectrum ranges from steatosis to steatohepatitis, advanced fibrosis, cirrhosis and HCC. Alcohol-Associated Liver Disease. Excessive alcohol intake promotes oxidative stress, hepatocyte injury, inflammation and progressive fibrosis and remains an important preventable cause of chronic liver disease. Autoimmune and Cholestatic Liver Diseases. Autoimmune hepatitis, primary biliary cholangitis and primary sclerosing cholangitis are less common but may produce substantial chronic morbidity and often require long-term disease-specific management. Hepatocellular Carcinoma. HCC commonly develops in the setting of chronic liver disease or cirrhosis. Prognosis depends strongly on stage at diagnosis, making effective surveillance and early detection important (Gan et al., 2025).

1.4. Clinical and Economic Burden

Liver disease creates costs through repeated laboratory and imaging examinations, hospitalization, invasive procedures, pharmacological treatment and long-term follow-up. Advanced disease may require intensive care or transplantation. Reduced productivity, disability, premature retirement and caregiver burden further increase the socioeconomic impact.

1.5. Challenges in Early Diagnosis

ALT, AST, ALP, GGT, bilirubin, albumin and coagulation parameters remain indispensable, but single biomarkers frequently lack adequate sensitivity or specificity. Imaging provides structural information but may have limitations in early disease, while biopsy is invasive and unsuitable for repeated monitoring. These limitations encourage computational methods that integrate heterogeneous information(Lala et al., 2023).

1.6. Need for Artificial Intelligence-Based Diagnostic Strategies

Healthcare digitalization has generated large laboratory, imaging, pathological and clinical datasets. Machine learning can integrate multiple biomarkers and detect subtle patterns that may be missed by conventional interpretation. Supervised algorithms, feature selection and ensemble approaches may improve prediction while preserving the use of routinely collected data (Sun et al., 2025).

2. ARTIFICIAL INTELLIGENCE IN MEDICINE

2.1. Introduction

AI has become an important component of modern medicine because digital health records, laboratory technologies and medical imaging generate increasingly complex datasets. AI systems can support diagnosis, prognosis, treatment planning and monitoring.

Healthcare data include laboratory results, imaging, pathology, genomics, clinical notes and longitudinal observations. AI can learn patterns directly from these data and identify nonlinear relationships that may not be captured by conventional statistical approaches (Fuse et al., 2025).

2.2. Evolution of Artificial Intelligence in Healthcare

Early medical AI relied mainly on rule-based expert systems, whose performance depended on predefined knowledge. Electronic health records, laboratory information systems, hospital information systems and imaging archives later created large datasets suitable for computational learning. Improvements in computing power, GPUs, cloud infrastructure and big-data methods enabled the transition toward data-driven machine learning(Kalasampath et al., 2025).

2.3. Major Branches of Artificial Intelligence

Machine Learning

Machine learning learns mathematical relationships between predictors and clinical outcomes from historical data. Supervised, unsupervised, semi-supervised and reinforcement learning represent major strategies; supervised learning dominates diagnostic applications because outcomes are usually labeled(Ono & Goto, 2022).

- Logistic Regression
- Decision Tree
- Random Forest
- Support Vector Machine
- Naïve Bayes
- k-Nearest Neighbor
- Gradient Boosting
- XGBoost, LightGBM and CatBoost
- Artificial Neural Networks

Deep Learning

Deep learning uses multilayer neural networks to learn hierarchical representations. Convolutional Neural Networks are widely used for liver segmentation, lesion detection, fibrosis assessment, steatosis quantification, HCC detection and analysis of ultrasound, CT and MRI(Survarachakan et al., 2022).

Natural Language Processing

Natural Language Processing converts unstructured clinical text such as discharge summaries, pathology reports, radiology interpretations and physician notes into structured information suitable for analysis and decision support(Iroju & Olaleke, 2015).

Computer Vision

Computer vision combines image processing and deep learning to identify lesions, segment organs, classify tumors, analyze vasculature and assist fibrosis estimation or surgical planning(Rayed et al., 2024).

2.4. Artificial Intelligence Workflow

A reliable AI workflow includes data collection, preprocessing, feature selection or engineering, model development, hyperparameter optimization and validation. Clinical datasets commonly contain missing values, duplicates, outliers, inconsistent measurements and class imbalance; normalization, standardization, imputation and appropriate encoding are therefore essential.

Feature selection reduces redundancy and dimensionality, improves computational efficiency and may increase interpretability. Model validation can use hold-out methods, k-fold or stratified cross-validation and, ideally, external multicenter validation. External validation is essential because

models developed from single-center retrospective data may not generalize(Mumuni & Mumuni, 2025).

2.5. Explainable Artificial Intelligence

Many AI models are difficult to interpret, which can reduce clinician confidence. XAI methods including SHAP, LIME, feature importance, partial dependence and saliency techniques improve transparency. SHAP can provide both global and patient-specific explanations and is particularly useful for showing the contribution of biochemical biomarkers to predictions(Vimbi et al., 2024).

2.6. Artificial Intelligence in Hepatology

Hepatology applications include chronic liver disease screening, fibrosis prediction, cirrhosis diagnosis, liver failure assessment, HCC detection, transplant outcome prediction, mortality estimation and treatment-response prediction. Models using routine biochemical parameters are particularly attractive because they require no additional laboratory testing and can be incorporated into clinical decision-support systems(Sun et al., 2025).

3. MACHINE LEARNING ALGORITHMS IN LIVER DISEASE DIAGNOSIS

3.1. Introduction

Machine learning identifies patterns in multidimensional clinical datasets and is particularly relevant to liver disease because hepatic disorders are influenced by biochemical, metabolic, demographic, genetic, imaging and clinical variables. Algorithms can integrate these variables and generate predictions that more closely reflect multidimensional clinical reasoning.

3.2. Fundamentals of Machine Learning

The ML process generally involves acquisition of high-quality data, preprocessing, feature engineering, model development, hyperparameter optimization, internal validation, external validation and clinical implementation. Supervised learning is the dominant strategy when diagnostic outcomes are known(Stahl, 2024).

3.3. Data Preprocessing

Data quality strongly affects predictive performance. Missing observations, duplicated records, transcription errors, inconsistent measurements and outliers should be addressed. Imputation, normalization or standardization, categorical encoding and management of class imbalance help reduce bias and improve reproducibility. Feature scaling is especially important for algorithms such as SVM and k-NN(Dong et al., 2026).

3.4. Feature Engineering and Feature Selection

Feature engineering transforms raw measurements into informative predictors, including derived indices and biomarker ratios. Feature selection removes redundant variables and reduces overfitting. Correlation filters, wrapper methods, recursive feature elimination, embedded tree-based methods, permutation importance and SHAP-based ranking have been used in liver disease prediction(Kaur, 2025).

3.5. Supervised Machine Learning Algorithms

3.5.1. Logistic Regression

Logistic Regression estimates the probability of a diagnostic category and remains an important interpretable benchmark. Coefficients show the direction and magnitude of predictor effects. It performs well with routine biochemical

markers but may be limited when complex nonlinear interactions are present(Wanyonyi et al., 2025).

3.5.2. Decision Tree

Decision Trees recursively partition observations according to variables that best separate diagnostic classes. They are intuitive, require limited preprocessing and can display clinical decision pathways, but individual trees are prone to overfitting (Trees, 2019).

3.5.3. Random Forest

Random Forest combines many decision trees generated from bootstrap samples and subsets of predictors. It generally improves accuracy and robustness compared with a single tree and provides feature-importance estimates, making it a common benchmark for structured liver disease data (Chen et al., 2026).

3.5.4. Support Vector Machine

SVM identifies an optimal decision boundary and can model nonlinear relationships through kernels, especially the radial basis function. It is useful for relatively small datasets with many predictors, although performance depends on hyperparameter optimization and interpretability is limited (Rahman et al., 2019).

3.5.5. Naïve Bayes

Naïve Bayes applies Bayes' theorem while assuming conditional independence among predictors. It is fast and useful as a baseline, but correlated liver biomarkers may reduce performance because the independence assumption is rarely fully satisfied (Bayes, 2019).

3.5.6. k-Nearest Neighbor

k-NN classifies a new observation according to the most similar previous cases. Performance depends on feature scaling,

the choice of k and distance metric. Computational cost increases with dataset size, limiting its use in large clinical systems (Guo et al., 2003; Zhang & Zhou, 2007).

3.5.7. Artificial Neural Networks (ANNs)

ANNs learn complex nonlinear relationships through interconnected layers of neurons. They can model interactions among biochemical, metabolic and clinical variables and may outperform simpler models in complex datasets. However, they generally require careful training and may be difficult to interpret (Hwang et al., 2015; Kalyan et al., 2014).

3.5.8. Gradient Boosting

Gradient Boosting sequentially constructs weak learners, usually trees, with each stage correcting previous errors. It can model nonlinear relationships and feature interactions effectively, but excessive complexity may cause overfitting and requires hyperparameter optimization (Natekin & Knoll, 2013).

3.5.9. Extreme Gradient Boosting (XGBoost)

XGBoost improves gradient boosting through regularization, efficient computation, missing-data handling and tree pruning. It performs strongly on structured clinical datasets and integrates well with SHAP, combining predictive performance with patient-level explanation (Chen et al., 2015).

3.5.10. Light Gradient Boosting Machine (LightGBM)

LightGBM uses histogram-based learning and leaf-wise growth to accelerate training and reduce memory use. It is scalable and can provide competitive performance for large or high-dimensional biochemical datasets (Ke et al., 2017).

3.5.11. CatBoost

CatBoost is designed to handle categorical variables efficiently while combining them with continuous laboratory

measurements. It may reduce the need for extensive feature engineering and represents a useful alternative to other boosting algorithms (Hancock & Khoshgoftaar, 2020).

3.6. Ensemble Learning

Ensemble learning combines multiple predictive models to improve accuracy, robustness and stability. Bagging builds independent models from bootstrap samples, as in Random Forest, whereas boosting constructs models sequentially to correct previous errors. Gradient Boosting, XGBoost, LightGBM and CatBoost are major boosting approaches (Zhou, 2021).

3.7. Comparative Performance in Liver Disease Diagnosis

No algorithm is universally optimal. Performance depends on dataset size, class distribution, preprocessing, feature selection, hyperparameter optimization and validation. Logistic Regression is highly interpretable; Random Forest provides a strong balance of accuracy and interpretability; SVM is useful for smaller complex datasets; neural networks model multidimensional interactions; and modern boosting methods frequently perform strongly on structured clinical data. Explainable ensemble approaches are increasingly attractive(Boujmiraz et al., 2026).

3.8. Model Evaluation and Performance Assessment

3.8.1. Accuracy

Accuracy is the proportion of correctly classified observations. It may be misleading when disease classes are imbalanced(Foody, 2023).

3.8.2. Sensitivity (Recall)

Sensitivity is the proportion of affected patients correctly identified and is especially important in screening because false negatives may delay diagnosis(Monaghan et al., 2021).

3.8.3. Specificity

Specificity is the proportion of healthy individuals correctly classified. Adequate specificity reduces unnecessary investigations and procedures(Monaghan et al., 2021).

3.8.4. Precision

Precision is the probability that a patient predicted as diseased truly belongs to the diseased class. It is important when false positives have clinical consequences(Monaghan et al., 2021).

3.8.5. F1 Score

F1-score combines precision and recall and may be informative when class distributions are imbalanced(Monaghan et al., 2021).

3.8.6. Receiver Operating Characteristic Curve (ROC)

ROC analysis evaluates sensitivity against the false-positive rate across classification thresholds(Monaghan et al., 2021).

3.8.7. Area Under the ROC Curve (AUC)

AUC summarizes discrimination across thresholds. Values of 0.50 indicate no discrimination; 0.60–0.69 poor, 0.70–0.79 acceptable, 0.80–0.89 good and ≥0.90 excellent discrimination(Monaghan et al., 2021).

3.8.8. Matthews Correlation Coefficient

MCC incorporates all four confusion-matrix components and provides a balanced measure in imbalanced datasets(Zhu, 2020).

3.8.9. Calibration

Calibration assesses whether predicted probabilities correspond to observed risk. Calibration plots and Brier scores complement discrimination measures such as ROC-AUC(Benevenuta et al., 2020).

3.9. Model Validation

Validation should also reflect the clinical purpose of the model. A screening model may prioritize sensitivity, whereas a confirmatory model may require greater specificity. Risk-prediction systems should provide calibrated probabilities rather than relying only on a binary classification. Thresholds should therefore be determined prospectively and, where possible, evaluated using decision-oriented measures that consider the consequences of false-positive and false-negative results(Wu et al., 2026).

Reproducibility is another essential requirement. Development datasets should be described clearly, including patient selection, exclusion criteria, outcome definitions, laboratory measurement procedures and the timing of measurements. Preprocessing operations must be performed without information leakage from the validation data into model training. Hyperparameter tuning should be separated from final performance assessment. When external validation is performed, the differences between development and validation populations should be reported so that limitations in transportability can be recognized(Streiber et al., 2025).

Clinical adoption additionally requires monitoring after deployment. Laboratory methods, patient demographics and disease prevalence may change over time, causing model performance to drift. Periodic recalibration and prospective monitoring can help identify deterioration. For this reason, an AI diagnostic model should be regarded as a clinical system requiring continuous quality assessment rather than as a static software product(Guan et al., 2025).

Internal validation can use hold-out data, k-fold or stratified k-fold cross-validation and bootstrap resampling. Stratification helps preserve disease prevalence across folds. External validation using independent hospitals, geographic regions or healthcare systems is the strongest assessment of generalizability and remains insufficiently common in liver AI research(Dubray-Vautrin et al., 2025).

3.10. Clinical Applications of Machine Learning

- Early liver disease detection using routine biochemical parameters
- Differential diagnosis of viral, metabolic, alcohol-associated and autoimmune liver disorders
- Non-invasive prediction of fibrosis severity
- HCC risk assessment using laboratory and imaging features
- Clinical decision support integrated with electronic health records

3.11. Current Challenges

Important barriers include small single-center datasets, inadequate external validation, heterogeneous laboratory protocols, missing information, class imbalance, limited interpretability, regulatory requirements, ethical concerns,

privacy and integration into clinical workflow. Progress requires collaboration among clinicians, laboratory specialists, computer scientists, statisticians and regulatory authorities.

3.12. Future Directions

Future systems are likely to integrate biochemical markers with radiological imaging, digital pathology, genomic, proteomic and metabolomic information, electronic health records and wearable data. XAI may improve clinician confidence and regulatory acceptance. Federated learning could support multicenter development while reducing the need to centralize patient data. Large prospective multicenter studies with external validation and standardized reporting will be essential for clinical translation.

Clinical translation also requires that model outputs be evaluated in the context of real clinical workflows. Diagnostic thresholds should be selected according to the intended use, whether screening, confirmation, risk stratification or monitoring. Performance should be reported with discrimination and calibration measures, confidence intervals and clinically relevant error patterns. Models should also be assessed for stability across demographic and clinical subgroups so that apparently strong overall performance does not conceal reduced accuracy in particular patient populations. Transparent reporting of dataset composition, preprocessing, feature selection, validation strategy and missing-data management is essential for reproducibility. These considerations are especially important for models based on routine biochemical tests because laboratory methods, reference intervals and patient characteristics may differ between institutions.

4. CONCLUSION

Artificial intelligence offers a promising framework for improving liver disease diagnosis by integrating routine biochemical biomarkers with clinical and other digital data. Machine learning can identify nonlinear diagnostic patterns and potentially enable earlier detection, while XAI methods can make predictions more transparent. Nevertheless, reliable clinical implementation requires high-quality data, rigorous preprocessing, appropriate validation, external testing, calibration, privacy protection and multidisciplinary oversight. Future progress will depend less on developing increasingly complex algorithms alone and more on demonstrating reproducible clinical benefit across diverse populations.

REFERENCES

Bayes, N. (2019). Retrieve from: https://www. geeksforgeeks. org/naive-bayes-classifiers. *Last Accessed*, *5*.

Benevenuta, S., Capriotti, E., & Fariselli, P. (2020). Calibrating variant-scoring methods for clinical decision making. *Bioinformatics*, *36*(24), 5709-5711.

Boujmiraz, S., Darhmaoui, H., & El Maliani, A. D. (2026). Predicting student performance: A comprehensive review of machine learning, deep learning, and explainable AI approaches. *Computers and Education: Artificial Intelligence*, 100548.

Chen, D., Wang, Y., Tang, L., Cohen, I., Chen, J., Zhao, Z., & Chen, J. (2026). SPIRAL: A probabilistic deep learning framework for Chinese liquor (Baijiu) classification via near-infrared hyperspectral imaging. *Food Chemistry*, 149583.

Chen, T., He, T., Benesty, M., Khotilovich, V., Tang, Y., Cho, H., Chen, K., Mitchell, R., Cano, I., & Zhou, T. (2015). Xgboost: extreme gradient boosting. *R package version 0.4-2*, *1*(4), 1-4.

Dong, B., Zhang, X., Liu, Y., Zhang, T., Liu, X., Hou, L., Meng, L., Guo, Z., & Mulati, A. (2026). Risk-Sensitive Machine Learning for Financial Decision Modeling Under Imbalanced Data: Evidence from Bank Telemarketing. *Entropy*, *28*(3), 354.

Dubray-Vautrin, A., Choussy, O., Lamy, C., Marret, G., Martin, J., Klijanienko, J., Vacher, S., Ahmanache, L., Bieche, I., & Dupain, C. (2025). A clustering-stratified cross-validation framework for validating omics survival models: application to head and neck cancer. *BMC Medical Research Methodology*, *25*(1), 277.

Foody, G. M. (2023). Challenges in the real world use of classification accuracy metrics: From recall and precision to the Matthews correlation coefficient. *PloS one*, *18*(10), e0291908.

Fuse, Y., Murphy, S. N., Ikari, H., Takahashi, A., Fuse, K., & Kawakami, E. (2025). Artificial intelligence in clinical data analysis: A review of large language models, foundation models, digital twins, and allergy applications. *Allergology International*, *74*(4), 499-513.

Gan, C., Yuan, Y., Shen, H., Gao, J., Kong, X., Che, Z., Guo, Y., Wang, H., Dong, E., & Xiao, J. (2025). Liver diseases: epidemiology, causes, trends and predictions. *Signal transduction and targeted therapy*, *10*(1), 33.

Guan, H., Bates, D., & Zhou, L. (2025). Keeping medical AI healthy and trustworthy: a review of detection and correction methods for system degradation. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*.

Guo, G., Wang, H., Bell, D., Bi, Y., & Greer, K. (2003). KNN model-based approach in classification. OTM Confederated International Conferences" On the Move to Meaningful Internet Systems",

Hancock, J. T., & Khoshgoftaar, T. M. (2020). CatBoost for big data: an interdisciplinary review: JT Hancock, TM Khoshgoftaar. *Journal of big data*, *7*(1), 94.

Hwang, Y. N., Lee, J. H., Kim, G. Y., Jiang, Y. Y., & Kim, S. M. (2015). Classification of focal liver lesions on ultrasound images by extracting hybrid textural features and using an artificial neural network. *Bio-medical materials and engineering*, *26*(1_suppl), S1599-S1611.

Iroju, O. G., & Olaleke, J. O. (2015). A systematic review of natural language processing in healthcare. *International*

Journal of Information Technology and Computer Science, *8*(8), 44-50.

Kalasampath, K., Spoorthi, K., Sajeev, S., Kuppa, S. S., Ajay, K., & Maruthamuthu, A. (2025). A literature review on applications of explainable artificial intelligence (XAI). *IEEE access*, *13*, 41111-41140.

Kalyan, K., Jakhia, B., Lele, R. D., Joshi, M., & Chowdhary, A. (2014). Artificial neural network application in the diagnosis of disease conditions with liver ultrasound images. *Advances in bioinformatics*, *2014*(1), 708279.

Kaur, B. (2025). Feature Engineering in Machine Learning: Selection, Extraction, and Their Impact on Model Performance. *International Journal of Information Technology And Management Information Systems*, *16*(3), 1-18.

Ke, G., Meng, Q., Finley, T., Wang, T., Chen, W., Ma, W., Ye, Q., & Liu, T.-Y. (2017). Lightgbm: A highly efficient gradient boosting decision tree. *Advances in neural information processing systems*, *30*.

Lala, V., Zubair, M., & Minter, D. A. (2023). Liver function tests. In *StatPearls [internet]*. StatPearls Publishing.

Mauss, S., Pol, S., Buti, M., Duffell, E., Gore, C., Lazarus, J. V., der Grient, H. L.-v., Lundgren, J., Mozalevskis, A., & Raben, D. (2017). Late presentation of chronic viral hepatitis for medical care: a consensus definition. *BMC medicine*, *15*(1), 92.

Monaghan, T. F., Rahman, S. N., Agudelo, C. W., Wein, A. J., Lazar, J. M., Everaert, K., & Dmochowski, R. R. (2021). Foundational statistical principles in medical research: sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value. *Medicina*, *57*(5), 503.

Mumuni, A., & Mumuni, F. (2025). Automated data processing and feature engineering for deep learning and big data applications: A survey. *Journal of Information and Intelligence*, *3*(2), 113-153.

Natekin, A., & Knoll, A. (2013). Gradient boosting machines, a tutorial. *Frontiers in neurorobotics*, *7*, 21.

Ono, S., & Goto, T. (2022). Introduction to supervised machine learning in clinical epidemiology. *Annals of clinical epidemiology*, *4*(3), 63-71.

Rahman, A. S., Shamrat, F., Tasnim, Z., Roy, J., & Hossain, S. A. (2019). A comparative study on liver disease prediction using supervised machine learning algorithms. *International Journal of Scientific & Technology Research*, *8*(11), 419-422.

Rayed, M. E., Islam, S. S., Niha, S. I., Jim, J. R., Kabir, M. M., & Mridha, M. F. (2024). Deep learning for medical image segmentation: State-of-the-art advancements and challenges. *Informatics in medicine unlocked*, *47*, 101504.

Stahl, D. (2024). New horizons in prediction modelling using machine learning in older people's healthcare research. *Age and ageing*, *53*(9), afae201.

Streiber, A. M., Hoepel, S. J., Blok, E., Van Rooij, F. J., Neitzel, J., Labrecque, J., Ikram, M. K., & Bos, D. (2025). Improving reproducibility of data analysis and code in medical research: 5 recommendations to get started. *BMJ open*, *15*(10), e104691.

Sun, J.-R., Sun, X.-N., Lu, B.-J., & Deng, B.-C. (2025). Artificial intelligence in hepatopathy diagnosis and treatment: Big data analytics, deep learning, and clinical prediction models. *World Journal of Gastroenterology*, *31*(46), 111176.

Survarachakan, S., Prasad, P. J. R., Naseem, R., de Frutos, J. P., Kumar, R. P., Langø, T., Cheikh, F. A., Elle, O. J., & Lindseth, F. (2022). Deep learning for image-based liver analysis—A comprehensive review focusing on malignant lesions. *Artificial Intelligence in Medicine*, *130*, 102331.

Trees, D. (2019). Retrieve from: https://dataaspirant. com/2017/01/30/how-decision-treealgorithm-works. *Last Accessed*, *5*.

Vimbi, V., Shaffi, N., & Mahmud, M. (2024). Interpreting artificial intelligence models: a systematic review on the application of LIME and SHAP in Alzheimer's disease detection. *Brain informatics*, *11*(1), 10.

Wanyonyi, M., Morris, Z. N., Musyoka, F. M., Makaa, D., & Kitavi, D. M. (2025). Balancing interpretability and accuracy: A comparative evaluation of logistic regression and machine learning approaches for coronary heart disease risk prediction in low-resource settings.

Wu, Q., Qi, Z., Li, Q., Hao, C., & Tang, S. (2026). Systematic evaluation of machine learning models for clinical risk prediction on real-world hospital datasets. *Iscience*, *29*(5).

Zhang, M.-L., & Zhou, Z.-H. (2007). ML-KNN: A lazy learning approach to multi-label learning. *Pattern recognition*, *40*(7), 2038-2048.

Zhou, Z.-H. (2021). Ensemble learning. In *Machine learning* (pp. 181-210). Springer.

Zhu, Q. (2020). On the performance of Matthews correlation coefficient (MCC) for imbalanced dataset. *Pattern recognition letters*, *136*, 71-80.

PREANALİTİK HATALARIN HASTA SONUÇLARI ÜZERİNE ETKİSİ

Emel ÇOLAK SAMSUM[1]

1. GİRİŞ

Klinik laboratuvar sonuçları, tanı, tedavi izlemi ve prognoz takibine yönelik tıbbi kararları doğrudan etkilemekte olup literatürde bu oranın %70–80'e kadar ulaştığı belirtilmektedir (O'Kane, 2009; Restelli, Taylor, Cochrane ve Noble, 2017). Amerika Birleşik Devletleri'nde sağlık hizmetleriyle ilişkili hasta ölümlerinin ve yaralanmalarının artması üzerine Institute of Medicine tarafından yayımlanan "To Err Is Human" raporunun ardından, laboratuvar tıbbı da hatalarını sistematik olarak tanımlama, ölçme ve azaltma sürecine odaklanmıştır (Plebani, 2010).

Son otuz yılda yapılan araştırmalar, otomasyon, standardizasyon ve iç/dış kalite kontrol programlarının analitik evre hatalarını önemli ölçüde azalttığını göstermektedir. Analitik evredeki hataların azalması sonucunda, test isteminden numunenin analizine kadar uzanan preanalitik evre, toplam test sürecindeki hataların büyük çoğunluğunun kaynağı haline gelmiştir (Lippi ve Guidi, 2007; Plebani, 2010). Ancak, bir hatanın sık görülmesi, hastaya zarar verme potansiyeliyle eşdeğer değildir. Preanalitik hatalar en sık karşılaşılan hata türü olmasına rağmen, ciddi hasta zararına yol açan olayların büyük bir kısmı postanalitik evrede ortaya çıkmaktadır.

[1] Uzm. Dr., SBÜ Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya Bölümü, ORCID: 0000-0002-7701-1379.

2. TOPLAM TEST SÜRECİ VE LABORATUVAR HATASI KAVRAMI

2.1. Beyin-Beyin Döngüsü ve Toplam Test Süreci

George Lundberg'in 1981'de tanımladığı "beyin-beyin döngüsü", laboratuvar testinin klinisyenin zihninde test isteme kararıyla başlayıp, sonucun yine klinisyen tarafından yorumlanarak hasta yönetimine yansıtılmasıyla tamamlanan döngüsel bir süreç olduğunu vurgular (Plebani, Laposata ve Lundberg, 2011). Bu döngü, günümüzde toplam test süreci (TTS) olarak adlandırılan ve preanalitik, analitik ve postanalitik olmak üzere üç evreye ayrılan çerçevenin temelidir. Preanalitik evre, testin istenmesinden numunenin analiz edilmesine kadar geçen tüm işlemleri (istem, hasta hazırlığı, numune alımı, etiketleme, transfer, kayıt ve numune hazırlama) kapsar; analitik evre, numunenin ölçümünü, postanalitik evre ise sonucun doğrulanması, raporlanması ve klinisyen tarafından yorumlanmasını içerir (Astion, Shojania, Hamill, Kim ve Ng, 2003; Snydman ve ark., 2012).

Plebani (2010), bu sınıflandırmayı pre-preanalitik (test istemi) ve post-postanalitik (sonucun değerlendirilmesi, yorumlanması ve izlenmesi) basamaklarını ekleyerek genişletmiştir. Bu model, döngünün başında ve sonunda yer alan ve büyük ölçüde laboratuvarın denetimi dışında gerçekleşen basamakların en hataya açık basamaklar olduğunu açıkça gösterir. Nitekim TTS içerisinde yalnızca analitik evre tümüyle laboratuvarın kontrolü altındadır; preanalitik ve postanalitik evreler ise klinisyen, hemşire, transfer personeli ve bilgi sistemleri çalışanları gibi çok sayıda personelin iş birliği ile sürdürülür (Plebani, 2010).

2.2. Laboratuvar Hatasının Tanımı

Laboratuvar hatası kavramı için uzun süre ortak bir terminoloji bulunamamış; literatürde "hata", "gaf", "kusur" ve

"kabul edilemez sonuç" gibi terimler eş anlamlı olarak kullanılmıştır (Plebani, 2010). ISO 22367 laboratuvar hatasını, "test isteminden sonuçların raporlanmasına, uygun biçimde yorumlanmasına kadar laboratuvar döngüsünün herhangi bir bölümünde, planlanan bir eylemin amaçlandığı gibi tamamlanamaması veya bir amaca ulaşmak için yanlış bir planın kullanılması" olarak tanımlar (International Organization for Standardization [ISO], 2020; Plebani, 2010). Bu kapsayıcı tanım, hatanın kaynağı laboratuvar içinde ya da dışında olsun, hasta merkezli bir değerlendirme yapılmasını gerektirir.

O'Kane (2009) ise "hata" ve "gaf" gibi suçlayıcı çağrışımlı sözcüklerin bildirim isteksizliğini artırdığına dikkat çekerek daha nötr bir terim olan "kalite yetersizliği" (quality failure) kavramını önermiştir: test seçiminden uygun biçimde yorumlanmış raporun klinisyene ulaşmasına kadar uzanan yolun herhangi bir noktasında, optimal hasta bakımı için gerekli çıktı kalitesine ulaşılamaması. Bu tanımın özelliği, süreçlerden çok hasta sonuçlarına odaklanmasıdır.

3. TOPLAM TEST SÜRECİNDE HATALARIN DAĞILIMI

3.1. Olay Bildirim Sistemlerine Dayanan Çalışmalar

Laboratuvar hatalarının evrelere göre dağılımıyla ilgili verilerin büyük bir kısmı, gönüllü hasta güvenliği olay bildirim sistemlerinin retrospektif analizlerinden elde edilmiştir. Tablo 1'de, farklı ülkelerde, çeşitli ölçeklerde ve veri kaynaklarıyla yapılan çalışmaların bulguları özetlenmiştir. Tüm araştırmalarda, preanalitik evre en sık hata nedeni olup, preanalitik hataların oranı %51 ile %94.6 arasında değişkenlik göstermektedir.

Tablo 1. Toplam Test Sürecinde Hataların Evrelere Göre Dağılımı: Başlıca Çalışmalar

Çalışma (ülke)	Örneklem ve veri kaynağı	Pre. (%)	Anal. (%)	Post. (%)	Diğer (%)
Astion ve ark. (2003), ABD	129 olay; laboratuvar içi olay bildirimi (%66) ve risk yönetimi raporları (%34)	71	18	11	2[a]
Carraro ve Plebani (2007), İtalya	160 hata; acil laboratuvarında doğrudan izlem	61.9	15.0	23.1	–
O'Kane (2009), Birleşik Krallık	658 kalite yetersizliği; laboratuvar içi bildirim	87.6	11.1	1.3	–
Snydman ve ark. (2012), ABD	37.532 olay; 30 sağlık kuruluşu, gönüllü elektronik bildirim sistemi (e-ERS)	81.1	6.0	5.2	7.7
Restelli ve ark. (2017), Kanada	12.278 olay; 75 laboratuvar, il çapında bildirim sistemi (BCPSLS)	76	6	18	–
van Moll ve ark. (2023), Hollanda	327 olay; tek akademik hastane, gönüllü olay bildirimi	77.1	13.5	8.0	1.5
Guo ve ark. (2025), Çin	51 olay; laboratuvar içi bildirim ve hastane risk yönetimi sistemi	51	4	18	27[b]
Lin ve ark. (2025), ABD	87.317 hata; LBYS raporları, teknisyen kayıtları ve olay bildirimleri (hemoliz hariç 26.569 hata)	98.4 (94.6[c])	0.5 (1.7[c])	1.1 (3.7[c])	–
Tarekegn ve ark. (2025), Etiyopya	33.792 hata; 4.140 numune ve istemde 136.722 kalite göstergesinin prospektif izlemi	63.6	1.6	34.8	–
Saengpattrachai ve ark. (2026), Tayland	1.031 olay; altı hastanelik ağ, gönüllü olay bildirimi	89.2	0.1	10.7	–

Pre. = preanalitik; Anal. = analitik; Post. = postanalitik; Diğer = sınıflandırılamayan; LBYS = laboratuvar bilgi yönetimi sistemi. [a]İki olay birden fazla evreyi içerdiği için satır toplamı %100'ü aşmaktadır. [b]Fiziksel tesis (%8), LBYS/iletişim (%14) ve belirlenemeyen (%6). [c]Hemoliz dışlandığında.

Bu heterojenliğin başlıca nedenleri çalışma tasarımındaki ve veri kaynağındaki (yalnızca laboratuvar içi kayıtlar, hastane genelindeki hasta güvenliği olay bildirimleri ya da laboratuvar bilgi sistemi verileri) farklılıklardır. Bazı çalışmalarda test istemi aşaması preanalitik faza hiç dahil edilmezken; bazı çalışmalarda hemoliz ölçüm yöntemini interfere etmesi dolayısıyla preanalitik

süreçten ziyade analitik sürece ait bir hata olarak sınıflandırılmıştır (Lin ve ark., 2025; Restelli ve ark., 2017). Örneğin, Guo, Dai, Jiang ve Liu (2025) fiziksel tesis ve laboratuvar bilgi sistemi kaynaklı olayları ayrı bir kategori olarak sınıflandırdığı için preanalitik hata yüzdesini diğer çalışmalara oranla daha düşük (%51) bulmuştur. Carraro ve Plebani (2007) ise on yıl arayla aynı acil laboratuvarında toplam hata oranı azalırken, preanalitik evrenin baskınlığının korunduğunu göstermiştir.

Dikkat çeken bir başka bulgu, analitik evrenin payının istikrarlı biçimde düşük kalmasıdır. Restelli ve ark. (2017), 75 laboratuvarı kapsayan 33 aylık izlemde yalnızca 49 cihaz hatası bildirilmiş olmasını gerçekçi bulmayarak analitik ve postanalitik evrelerde belirgin bir eksik bildirim olduğunu öne sürmüştür. Olay bildirim verileri, hataların gerçek epidemiyolojisini değil, çalışanların fark ettiği ve bildirmeye değer bulduğu hataların dağılımını yansıtmaktadır.

3.2. Dev Ölçekli Bir Analiz: Barnes-Jewish Hastanesi Deneyimi

Lin ve ark. (2025) tarafından ABD'de 1.400 yataklı bir üçüncü basamak hastanenin merkez laboratuvarında yürütülen çalışmada Ocak 2022–Mayıs 2023 arasındaki 16 aylık dönemde 37.680.242 sonuç ve yaklaşık 11.000.000 numune değerlendirilmiştir. Hatalar, teknisyenlerin gerçek zamanlı müdahale kayıtları, gönüllü olay bildirimleri ve laboratuvar bilgi sisteminden elde edilen delta kontrol, hemoliz-ikter-lipemi (HİL) uyarısı ile reddedilen ve düzeltilen sonuç raporları birleştirilerek saptanmıştır. Toplam 87.317 hata, sonuçların %0,23'üne ve numunelerin yaklaşık %0,79'una karşılık gelmektedir.

Hataların %98,4'ü preanalitik evrede gerçekleşmiş ve tek başına hemoliz tüm hataların %69,6'sını oluşturmuştur. Hemoliz dışlandığında bile dağılım preanalitik %94,6, analitik %1,7 ve

postanalitik %3,7 olarak bulunmuştur; uygunsuz tüp doldurma düzeyi (%9,5), pıhtılı numune (%6,9), yanlış tüp tipi (%6,8) ve intravenöz sıvı kontaminasyonu (%1,3) öne çıkan diğer preanalitik hatalardır. Yazarlar, yüksek preanalitik payı; hemoliz ve kontaminasyon gibi hata türlerinin analize dâhil edilmesine ve otomasyon ile otoverifikasyonun analitik ve postanalitik hataları azaltmış olabileceğine bağlamıştır (Lin ve ark., 2025). Bu çalışma, toplam test sürecinde fazlar arası hata dağılımının, dahil edilen hata türlerine ve veri kaynağına bağımlı olduğunu doğrudan göstermektedir.

4. PREANALİTİK EVREDE HATA KAYNAKLARI

4.1. Test İstemi ve Seçimi

Mrazek ve ark. (2020) preanalitik evreyi test istemi, numune alımı, numune kimliklendirme, transfer ve numune hazırlama alt basamaklarına ayırmıştır. İlk basamak olan test istemi; aşırı veya eksik test kullanımı ile istem formundaki hata ve belirsizlikleri (okunaksız istem, hatalı hasta bilgisi) kapsar. Bu hatalar geleneksel kalite kontrol araçlarıyla saptanamaz ve büyük ölçüde laboratuvar dışında gerçekleşir. Tarekegn ve ark. (2025) Etiyopya'da preanalitik hataların %97,5'inin istem formlarındaki eksik bilgilerden kaynaklandığı bildirilmiştir. Saengpattrachai ve ark. (2026) tanısal hata ile ilişkili laboratuvar olaylarının %48,2'sinin istem alt sürecinde gerçekleştiğini; van Moll, Egberts, Wagner, Zwaan ve ten Berg (2023) ise klinisyenin test istemindeki hataların (%11,9) en sık görülen üç hata tipinden biri olduğunu bildirmiştir. Plebani (2010), pre-preanalitik hataların ayaktan hasta ortamındaki gecikmiş ve atlanmış tanıların yarısından fazlasıyla ilişkili olduğuna dikkat çeker.

4.2. Hasta Hazırlığı ve Numune Alımı

Numune alımı basamağı; hasta kimliklendirmesi, uygunsuz zamanlama gibi hasta hazırlığı sorunları, yanlış tüp veya kap kullanımı ile yetersiz hacim, pıhtılaşma ve hemoliz gibi tüp doldurma ve karıştırma hatalarını içerir (Mrazek ve ark., 2020). Snydman ve ark. (2012) uygunsuz numune alımını (%13,2) en sık üçüncü preanalitik hata olarak saptamış; Restelli ve ark. (2017) preanalitik olayların %51'inin doğrudan numune alımıyla ilişkili olduğunu bildirmiştir. Lippi ve Guidi'ye (2007) göre uygun olmayan numunelerin en sık nedeni hemolizdir (%39–69); bunu pıhtılaşma, yetersiz hacim ve uygunsuz numune tüpü izler; buna karşılık Tarekegn ve ark. (2025) %12,9'luk numune reddi oranında en sık nedenin yetersiz hacim (%8,3) olduğunu, hemolizin %2,2 ile geride kaldığını bildirmiştir. Yatan hastalarda uygunsuz numune oranı, ayaktan hastalara göre belirgin biçimde yüksektir ve bu durum, flebotominin laboratuvar denetimi dışında gerçekleştiği ortamlarla ilişkilidir (Lippi ve Guidi, 2007); Lam ve Church (2024) de laboratuvar eğitimi almamış sağlık çalışanlarının bu hataların önlenmesindeki kritik rolüne dikkat çekmiştir.

Damar yolu veya kateterden alınan numunelerin infüzyon sıvısı ile kontaminasyonu, sıklığı düşük görünse de ciddi yanlış sonuçlara yol açabilen bir hata türüdür; Lin ve ark. (2025) saptamanın otoverifikasyon kurallarına bağlı olması nedeniyle bildirdikleri %1,3'lük sıklığın gerçeğin altında olabileceğini belirtmiştir. Ülkemizden bildirilen bir olgu sunumunda, hemodiyaliz kateteri kilit heparin solüsyonu kontaminasyonuna bağlı olarak albüminin ölçülemeyecek kadar düşük saptandığı gösterilmiştir (Namlı, Turgut ve Şeneş, 2027). Bu tür hatalar, analitik olarak "doğru" ölçülen ancak hastayı temsil etmeyen sonuçlar ürettikleri için çoğunlukla yalnızca klinik uyumsuzluğun fark edilmesiyle yakalanabilir.

4.3. Numune Kimliklendirme ve Etiketleme

Hasta ve numune kimliklendirme hataları preanalitik evrenin en tehlikeli hata grubudur; yanlış hastaya ait bir sonucun raporlanmasına yol açabilir ve standart laboratuvar kontrolleriyle saptanması güçtür (O'Kane, 2009). Snydman ve ark. (2012) etiketlenmemiş (%18,7) ve yanlış etiketlenmiş (%16,3) numuneyi en sık iki preanalitik hata olarak saptamış; Restelli ve ark. (2017) da etiketsiz veya yanlış etiketli numuneleri (%16) ilk sıraya yerleştirmiştir. Plebani (2010), hasta ve numune kimliklendirmesinin doğruluğunu hasta güvenliği açısından birinci öncelikli iyileştirme alanı olarak tanımlamaktadır.

4.4. Transfer ve Numune Hazırlama

Transfer basamağında taşıma süresinin uzaması ve sıcaklık uygunsuzluğu ile numune hasarı veya kaybı; numune hazırlama basamağında aliquotlama hataları ile hemoliz, ikter ve lipemi gibi numune bütünlüğü sorunları yer alır (Mrazek ve ark., 2020). Astion ve ark. (2003) transfer sırasında kaybolan veya geciken numuneleri (%16) en sık preanalitik sorun olarak saptamıştır; laboratuvar içinde geciken veya kaybolan numuneler (%13) ve veri girişi hataları (%12) bunu izlemiştir. van Moll ve ark. (2023) da numune kaybını (%8,0) en sık hata tipi olarak bildirmiştir. Preanalitik hatalar yalnızca hasta başında değil, laboratuvarın kendi kabul ve hazırlama alanlarında da yoğunlaşmaktadır.

5. LABORATUVAR HATALARININ SONUÇLARI

5.1. Klinik ve Hasta Yönetimine İlişkin Sonuçlar

Bir laboratuvar hatasının en sık ve en görünür sonucu sonuçlanma süresinin uzamasıdır. Astion ve ark. (2003) 129 laboratuvar ile ilişkili hatanın %85'inin sonucun gecikmesine,

%40'ının numunenin yeniden alınmasına ve %31'inin de hatalı sonucun klinisyene iletilmesine yol açtığını saptamıştır. Gecikme, tanı ve tedavinin ertelenmesine, gereksiz ileri tetkik veya tedaviye, yatış süresinin uzamasına ve hastada anksiyeteye yol açabilir. van Moll ve ark. (2023) çalışmalarında laboratuvar hatalarının %59.6'sının potansiyel bir tanısal hata (tanıda gecikme, yanlış veya atlanmış tanı) ile sonuçlandığını göstermiştir. Plebani (2010) laboratuvar hatalarının %24.4–30'unun hasta bakımına ilişkin bir sorun oluşturduğunu, %2.7–12'sinin ise advers olaya veya advers olay riskine sebebiyet verdiğini bildirmiştir.

5.2. Ekonomik, Yasal ve Operasyonel Sonuçlar

Hataların doğrudan hasta zararı oluşturmadığı durumlarda bile tekrar numune alımı, tekrar analiz, ek tetkik ve uzayan yatış süreleri kaynak israfına ve maliyet artışına yol açar; iş akışı bozulur ve laboratuvar ile hekim ve hasta arasındaki güven zedelenir (Lippi ve Guidi, 2007; Restelli ve ark., 2017). Saengpattrachai ve ark. (2026) kurumsal itibar zararını ayrı bir sonuç kategorisi olarak değerlendirmiş; tek bir olayın bile hasta güvenini sarsabileceğini, akreditasyon statüsünü tehlikeye atabileceğini ve medikolegal riski artırabileceğini vurgulamıştır. Plebani (2010) ise hataya "yasal yaklaşım"ın bildirimi ve dolayısıyla hataların tespit edilmesini engellediğini ve aşırı test istemine neden olarak defansif tıbbı körüklediğini belirtir.

6. HATANIN HASTAYA ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

6.1. Laboratuvar Hatası Yönetim Süreci

O'Kane (2009) kalite iyileştirme yolunu, kalite yetersizliğinin saptanması ile başlayan, bildirim, inceleme ve sınıflandırma ile devam eden ve düzeltici eylemle (prosedür

değişikliği, çalışma ortamının düzenlenmesi, ek eğitim) sonlanan bir süreç olarak tanımlar. Kalite yetersizlikleri kullanıcı şikâyetleri, personelin atipik bulguları fark etmesi ya da iç/dış kalite kontrol, numune-istem uyum kontrolü, denetimler ve delta kontrol gibi sistematik mekanizmalarla saptanır. Bu yolun en kritik iki engeli, hatanın hiç fark edilmemesi ve fark edildiği hâlde yetkili bir kişiye bildirilmemesidir (O'Kane, 2009).

Laboratuvar hatalarının saptanması cerrahi veya tedavi hatalarının aksine daha zorlayıcıdır. Bu zorluk test istemi ile klinisyenin aksiyonu arasındaki zaman farkı; sürecin karmaşıklığı ve yalnızca analitik evrenin laboratuvar kontrolünde olması; test ortamının hasta başı testlerle genişlemesi, hekimlerin laboratuvar hatalarını advers olay kaynağı olarak algılamaması ve laboratuvar profesyonellerinin suçlanma kaygısıyla hata verilerini paylaşma isteksizliği gibi nedenlere dayanır. Hataların önemli bir bölümü gönüllü hasta güvenliği bildirim sistemlerinden elde edilir ancak gönüllü bildirime dayanan veriler, ciddi olayların bildirilme olasılığının yüksek, basit ve ramak kala olayların ise düşük olması nedeniyle yanlı olabilir (Astion ve ark., 2003; van Moll ve ark., 2023). Ayrıca anonimlik eksikliği, bildirimin "ihbarcılık" olarak algılanması, iş yükü ve geri bildirim eksikliği gibi gerekçelerle hasta güvenliği ve laboratuvar ile ilişkili hataların bildirimi eksik yapılabilmektedir (Restelli ve ark., 2017).

6.2. Sınıflandırma ve Önceliklendirme

Hataların sınıflandırılmasında en yaygın yaklaşım, hatanın test sürecindeki evresine göre sınıflamadır. Bu yaklaşım kolay uygulanır, tekrarlanabilirdir ve odaklanılması gereken basamağı hızla gösterir; ancak hatanın nedensel doğasını (bilişsel/bilişsel olmayan, gizli/aktif) dikkate almaz (O'Kane, 2009). ISO/TS 22367 gibi kapsamlı sistemler bu ayrımları ve hastaya etkinin bir ölçüsünü de içerir; ancak uygulanması güçtür (O'Kane, 2009).

Hataların oluşma olasılığı, zararın şiddeti ve mevcut kontrollerin saptama etkinliği birlikte dikkate alınarak, düzeltici eylemlerin önceliği belirlenir (Lippi ve Guidi, 2007). ISO 22367:2020'ye göre, her klinik laboratuvar risk yönetimini altı aşamalı bir süreçle yürütmelidir: tehlikelerin tanımlanması ve risk tahmini, risklerin kabul edilebilirlik kriterleriyle karşılaştırıldığı risk değerlendirmesi, risklerin azaltılması ve kontrol edilmesi**,** kalan (rezidüel) riskin sağladığı faydayla dengelendiği fayda-risk analizi, sürecin genel olarak gözden geçirilmesi ve kontrollerin etkinliğinin sürekli izlenmesini sağlayan risk izleme faaliyetleri (ISO, 2020).

6.3. Zarar Şiddetinin Derecelendirilmesi: Farklı Ölçekler

Preanalitik hatanın hastaya etkisinin şiddetini ölçmenin tek ve standart bir yolu yoktur. Literatürdeki çalışmalar farklı taksonomiler, farklı zarar tanımları ve farklı derecelendirme sistemleri kullanmıştır; bu durum çalışmalar arası karşılaştırmayı güçleştirmektedir. Tablo 2'de başlıca çalışmaların kullandığı sınıflandırma sistemleri özetlenmiştir.

Tablo 2. Laboratuvar Hatalarının Hastaya Etkisini Derecelendirmede Kullanılan Sistemler

Çalışma	Sınıflandırmanın temeli	Derecelendirme
Astion ve ark. (2003), ABD	Olay tipi (gerçek/potansiyel advers olay); hastaya spesifik etki (gecikme, tekrar numune, hatalı sonuç)	Potansiyel advers olaylar için 1 (hastanın sağlığını olumsuz etkileme olasılığı çok düşük) – 5 (çok yüksek) ölçeği
O'Kane (2009), Birleşik Krallık	Gerçekleşen (A) ve potansiyel (P) etki; hasta sonucuna dayalı	1 (yönetimde değişiklik ve advers sonuç yok) – 5 (önemli advers klinik sonuç); A ve P için aynı ölçek
Snydman ve ark. (2012), ABD	DrQuality yazılımının Etki Düzeyi (LOI) indeksi; NCC MERP'e benzer, laboratuvara özgü	0–10 arası; analizde üç grup: zarar yok (LOI 3–4), geçici zarar (LOI 5–7), kalıcı zarar/ölüme yakın/ölüm (LOI 8–10)
Restelli ve ark. (2017), Kanada	Hastaya ulaşma durumu (ramak kala olan/olmayan); zarar derecesi (WHO ICPS)	Beş kademe: zarar yok, hafif, orta, ciddi, ölüm; ramak kala olaylarda potansiyel zarar derecesi

Çalışma	Sınıflandırmanın temeli	Derecelendirme
van Moll ve ark. (2023), Hollanda	Şiddet tipi ve sonucun ağırlığı (Graber'in tanısal hata sınıflaması uyarlanmış)	Şiddet tipi: zarar yok / sıkıntı-kaygı / yeni numune / tanıda gecikme / atlanmış tanı / yanlış tanı. Sonuç: zarar yok / minör / orta / majör / feci
Guo ve ark. (2025), Çin	Hastaya klinik etki	Var/yok; ayrıntılı şiddet derecelendirmesi yapılmamış
Saengpattrachai ve ark. (2026), Tayland	Tanıya etki; hasta ve kurum zararı (NCC MERP uyarlaması)	Tanıya etki: etkilemedi / gecikmiş / atlanmış / yanlış. Zarar: yok (0–2) / geçici (3–4) / kurumsal itibar zararı (5) / sentinel olay

NCC MERP = National Coordinating Council for Medication Error Reporting and Prevention; ICPS = International Classification for Patient Safety (Dünya Sağlık Örgütü Hasta Güvenliği Uluslararası Sınıflandırması); LOI = Level of Impact.

7. EVRE VE ZARAR ŞİDDETİ ARASINDAKİ İLİŞKİ: SIKLIK–ŞİDDET PARADOKSU

Olay bildirimi çalışmalarının en tutarlı ve en öğretici bulgusu, hataların sıklığı ile zarar şiddetinin evreler arasında ters yönde dağılmasıdır (Tablo 3). Snydman ve ark. (2012) 37.532 laboratuvar olayının %54.9'unun hastaya zarar vermediğini, %8.0'inin geçici zarara ve yalnızca %0,08'inin (30 olay) kalıcı zarar, ölüme yakın durum veya ölüme yol açtığını bildirmiştir. Evre ile zarar düzeyi arasındaki ilişki anlamlı olarak bulunmuştur ($\chi^2 = 311,33$; sd = 6; $p < 0,0001$): zarar düzeyi arttıkça preanalitik hataların yüzdesi %82.6'dan %43.3'e düşmüş, postanalitik hataların yüzdesi ise %4.1'den %43.3'e yükselmiştir.

Restelli ve ark. (2017) 12.278 olayın %77'sinin zarar yok, %19'unun hafif, %4'ünün orta ve %1'den azının ciddi zarar ile ilişkili olduğunu bildirmiştir; zarar vermeyen olaylarda %78 olan preanalitik hata yüzdesi ciddi zarar grubunda %52'ye gerilemiş, postanalitik hataların yüzdesi ise %16'dan %43'e yükselmiştir. van Moll ve ark. (2023) çalışmasında majör veya feci sonuç oranı preanalitik hatalarda %3.9, analitik hatalarda %18.2 ve postanalitik hatalarda %26.9 olmuştur. Saengpattrachai ve ark. (2026) verileri evre bazında yeniden hesaplandığında da

preanalitik hataların yalnızca %5.3'ü (49/920) nihai tanıyı etkilerken postanalitik hataların %41.8'i (46/110) tanıda gecikme, atlanmış veya yanlış tanı ile sonuçlanmış; yedi yanlış tanının beşi postanalitik evreden kaynaklanmıştır.

Tablo 3. Test Sürecinin Evresi ile Hasta Zararı Arasındaki İlişki: Seçilmiş Çalışmalar

Çalışma	Gösterge	Pre.	Anal.	Post.	Diğer
Snydman ve ark. (2012)	Zarar yok (LOI 3–4; n = 20.599) içinde evre payı (%)	82.6	6.4	4.1	7.0
	Geçici zarar (LOI 5–7; n = 3.002) içinde evre payı (%)	73.6	10.0	9.0	7.5
	Kalıcı zarar / ölüme yakın / ölüm (LOI 8–10; n = 30) içinde evre payı (%)	43.3	10.0	43.3	3.3
Restelli ve ark. (2017)	Zarar yok olayları içinde evre payı (%)	78	5	16	–
	Ciddi zarar olayları içinde evre payı (%)	52	~5	43	–
van Moll ve ark. (2023)	Evre içinde majör + feci sonuç oranı (%)	3.9	18.2	26.9	–
Saengpattrachai ve ark. (2026)	Evre içinde nihai tanıyı etkileyen (gecikmiş, atlanmış veya yanlış tanı) hata oranı (%)	5.3	1 olay (1/1)	41.8	–

Pre. = preanalitik; Anal. = analitik; Post. = postanalitik; LOI = Level of Impact.

Preanalitik hatalar çoğunlukla test sürecinin durmasına veya gecikmesine yol açarken; analitik ve postanalitik hatalar ise fark edilmeleri daha uzun sürdüğü için yanlış tanısal izlem ve tedaviye dönüşme olasılığı daha yüksek hatalardır (van Moll ve ark., 2023). Snydman ve ark. (2012) da preanalitik hataların genellikle laboratuvar teknisyenleri tarafından fark edilip klinisyene hiç ulaşmadığını vurgular. Dolayısıyla preanalitik hataların "zararsız" görünmesi, hatanın niteliğinden çok sistemin bu hataları yakalama kapasitesinin bir yansımasıdır.

8. PREANALİTİK HATALAR NEDEN ÇOĞUNLUKLA CİDDİ ZARARA DÖNÜŞMEZ? SAVUNMA BARİYERLERİ VE RİSK YÖNETİMİ

8.1. İsviçre Peyniri Modelinin Laboratuvar Tıbbına Uyarlanması

Reason'ın (2000) sistem yaklaşımına göre insan hata yapmaya yatkındır; hatalar nedenden çok sonuçtur ve iş yerindeki tekrarlayan hata tuzaklarından kaynaklanır. İsviçre peyniri modelinde tasvir edildiği gibi her savunma katmanında sürekli açılıp kapanan delikler bulunur ve ancak birçok katmandaki delikler aynı hizaya geldiğinde bir hata yörüngesi hastaya ulaşır (Reason, 2000). Delikler, sistem tasarımından kaynaklanan gizli (latent) koşullardan veya personelin unutma ve prosedür ihlali gibi aktif başarısızlıklarından oluşur (Lippi ve Guidi, 2007). Plebani (2010) bu modeli laboratuvar tıbbına uyarlamıştır: sürecin karmaşıklığı, çok sayıda basamak ve profesyonelin katılımı, birimler arası sınırlar, personel yetersizliği ve test istemi ile yorumlamadaki artan karmaşıklık "delikleri"; iyi tasarlanmış prosedürler, basitleştirme ve otomasyon, eğitim, süpervizyon, kalite göstergeleri ve etkili laboratuvar-klinik ara yüzü ise savunma katmanlarını oluşturur. Sürecin başındaki başarısızlıklar daha çok süreç aksamasına yol açar; hastaya en yakın basamaklardaki başarısızlıklar ise önlerinde daha az savunma katmanı kaldığı için hasta zararına yol açma olasılığı daha yüksek olanlardır (Plebani, 2010).

Preanalitik hatalar sıktır, ancak hastaya ulaşmadan önce geçmeleri gereken çok sayıda bariyer vardır; postanalitik hatalar seyrektir, ancak önlerinde neredeyse hiç bariyer kalmamıştır. Aynı model, bariyerlerin zayıfladığı koşullarda (delta kontrolün uygulanamadığı ilk başvuru hastası, HİL indekslerinin kullanılmadığı bir analizör, acil serviste kimliklendirmenin

atlandığı bir hasta) preanalitik hatanın potansiyel zararının neden yüksek olduğunu da açıklar.

8.2. Preanalitik Evrede Risk Yönetimi

Lippi ve Guidi (2007), İsviçre peyniri modelini preanalitik evreye özgü dört bileşenli bir risk yönetimi stratejisine dönüştürmüştür. Öngörme (predict), hata yörüngesinin nerede oluşabileceğini önceden kestirmeyi amaçlar; sürecin ayrıntılı analizini, görev ve sorumlulukların açıkça tanımlanmasını, standart çalışma talimatlarının numune alımında görev alan tüm personele ulaştırılmasını, hataya açık manuel adımların azaltılmasını ve performans göstergeleriyle sürekli izlenmesini içerir. Savunmaları güçlendirme (strengthen), tek bir kontrolün yerine birbirini izleyen kontroller koymayı ifade eder: yetersiz hacim, pıhtı ve interferans gibi faktörlerin, sadece görsel olarak incelemesi yerine görsel olarak ve analizör düzeyinde ardışık olarak saptanır. Savunmaları çeşitlendirme (diversify) ilkesi, farklı ilkelere dayanan kontroller kullanmayı ifade eder; bir kimliklendirme hatasına karşı analizördeki barkod kontrolünü çoğaltmak yerine hasta başında barkodlama, iki bağımsız kimlik tanımlayıcı, barkodlu bileklik ve bilgi teknolojisi temelli sonuç doğrulaması (otoverifikasyon, delta kontrol) bir arada kullanılmalıdır. Kırılganlığı azaltma (decrease vulnerability) ise numune uygunluğunun öznel ölçütler yerine otomatik serum indeksleri gibi nesnel sistemlerle değerlendirilmesini, nedensel ilişki şemalarının kullanılmasını ve sürekli eğitimi kapsar.

Bu stratejinin ön koşulu hataların sistematik biçimde kaydedilmesidir. IFCC Laboratuvar Hataları ve Hasta Güvenliği Çalışma Grubu (WG-LEPS), toplam test sürecinin tüm basamakları için uyumlaştırılmış kalite göstergeleri geliştirmiş; bunların önemli bir bölümü hasta kimliklendirme, test istemi, numune kimliklendirme, numune alımı, saklama-transfer ve

numune uygunluğu gibi preanalitik basamaklara ayrılmıştır (Plebani, 2010; West ve ark., 2017).

Düzeltici eylemin türü hatanın nedensel doğasına göre belirlenmelidir. Astion ve ark. (2003) önlenebilir olayların %73'ünde bilişsel olmayan (dikkat kaymasına bağlı sürçmeler), %30'unda ise bilişsel (bilgi eksikliği) hataların rol oynadığını saptamıştır; bilişsel olmayan hatalara karşı ek eğitim genellikle etkisizdir, kontrol listeleri, otomasyon ve görev karmaşıklığının azaltılması gerekir. Guo ve ark. (2025) aynı çerçeveyle iş akışı optimizasyonu, barkod temelli numune doğrulaması, kapalı döngü kritik değer bildirimi ve laboratuvar dışı personelin eğitimi ile preanalitik hatalarda anlamlı azalma sağlamıştır. Hataların Guo ve ark. (2025) çalışmasında %60'ının, Astion ve ark. (2003) çalışmasında üçte birinin laboratuvar dışı bir bileşen içermesi, preanalitik risk yönetiminin klinik birimlere ve laboratuvar eğitimi almamış sağlık çalışanlarına uzanması gerektiğini göstermektedir (Lam ve Church, 2024).

9. SONUÇ

Farklı ülkelerde, çeşitli ölçek ve yöntemlerle yürütülen tüm çalışmalar, preanalitik evrenin laboratuvar hatalarının %51–95'ini oluşturan baskın hata kaynağı olduğunu göstermektedir. Gerçekleşen hasta zararı açısından ise preanalitik hataların büyük çoğunluğu zarar oluşturmadan ya da yalnızca sonuç gecikmesi ve tekrar numune alımı gibi hafif sonuçlarla sonuçlanmaktadır. Kalıcı zarar, ölüm ve yanlış tanı gibi ciddi sonuçlar ise orantısız biçimde postanalitik evrede yoğunlaşmaktadır. Bu bulgu, preanalitik hataların önemsiz olmadığını değil, laboratuvarların çok katmanlı savunma sisteminin etkili bir şekilde işlediğini göstermektedir.

Gerçekleşen ve potansiyel riskler birlikte değerlendirildiğinde, klinik olarak önemli bir etkiye yol açmayan

bir hatanın farklı koşullarda hastaya ciddi zarar verebileceği göz ardı edilmemelidir. Düzeltici faaliyetlerin belirlenmesinde potansiyel riskler dikkate alınmalıdır.

KAYNAKÇA

Astion, M. L., Shojania, K. G., Hamill, T. R., Kim, S. ve Ng, V. L. (2003). Classifying laboratory incident reports to identify problems that jeopardize patient safety. *American Journal of Clinical Pathology, 120*(1), 18–26. doi:10.1309/8U5D0MA6MFH2FG19

Carraro, P. ve Plebani, M. (2007). Errors in a stat laboratory: Types and frequencies 10 years later. *Clinical Chemistry, 53*(7), 1338–1342. doi:10.1373/clinchem.2007.088344

Guo, Y., Dai, W., Jiang, Y. ve Liu, X. (2025). Analysis and actions after laboratory errors in a Chinese university hospital. *BMC Health Services Research, 25*, 1296. doi:10.1186/s12913-025-13320-5

International Organization for Standardization. (2020). *ISO 22367:2020 Medical laboratories — Application of risk management to medical laboratories.* Geneva, Switzerland: ISO.

Lam, J. C. ve Church, D. L. (2024). Preventing laboratory error and improving patient safety – The role of non-laboratory trained healthcare professionals. *Clinical Infection in Practice, 21,* 100345. doi:10.1016/j.clinpr.2024.100345

Lin, Y., Spies, N. C., Zohner, K., McCoy, D., Zaydman, M. A. ve Farnsworth, C. W. (2025). Pre-analytical phase errors constitute the vast majority of errors in clinical laboratory testing. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 63*(9), 1709–1715. doi:10.1515/cclm-2025-0190

Lippi, G. ve Guidi, G. C. (2007). Risk management in the preanalytical phase of laboratory testing. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 45*(6), 720–727. doi:10.1515/CCLM.2007.167

Mrazek, C., Lippi, G., Keppel, M. H., Felder, T. K., Oberkofler, H., Haschke-Becher, E. ve Cadamuro, J. (2020). Errors within the total laboratory testing process, from test selection to medical decision-making – A review of causes, consequences, surveillance and solutions. *Biochemia Medica, 30*(2), 020502. doi:10.11613/BM.2020.020502

Namlı, A., Turgut, H. A. ve Şeneş, M. (2027). Spurious undetectable albumin due to hemodialysis catheter lock contamination. *Clinica Chimica Acta, 593,* 121287. doi:10.1016/j.cca.2026.121287

O'Kane, M. (2009). The reporting, classification and grading of quality failures in the medical laboratory. *Clinica Chimica Acta, 404*(1–2), 28–31. doi:10.1016/j.cca.2009.03.023

Plebani, M. (2010). The detection and prevention of errors in laboratory medicine. *Annals of Clinical Biochemistry, 47*(2), 101–110. doi:10.1258/acb.2009.009222

Plebani, M., Laposata, M. ve Lundberg, G. D. (2011). The brain-to-brain loop concept for laboratory testing 40 years after its introduction. *American Journal of Clinical Pathology, 136*(6), 829–833. doi:10.1309/AJCPR28HWHSSDNON

Reason, J. (2000). Human error: Models and management. *BMJ, 320*(7237), 768–770. doi:10.1136/bmj.320.7237.768

Restelli, V., Taylor, A., Cochrane, D. ve Noble, M. A. (2017). Medical laboratory associated errors: The 33-month experience of an on-line volunteer Canadian province wide error reporting system. *Diagnosis, 4*(2), 79–86. doi:10.1515/dx-2017-0013

Saengpattrachai, M., Juntararat, N., Wittayapipat, U., Pimthong, S., Voralertkosol, T., Musikaew, P., … Chaiwong, W. (2026). Diagnostic errors in clinical laboratory testing

process: Incidence and impacts on patient safety—A 3-year voluntary incident report analysis. *International Journal for Quality in Health Care, 38*(2), mzag038. doi:10.1093/intqhc/mzag038

Snydman, L. K., Harubin, B., Kumar, S., Chen, J., Lopez, R. E. ve Salem, D. N. (2012). Voluntary electronic reporting of laboratory errors: An analysis of 37 532 laboratory event reports from 30 health care organizations. *American Journal of Medical Quality, 27*(2), 147–153. doi:10.1177/1062860611413567

Tarekegn, N., Mamo, A. G., Abdulsemed, K. A., Abdlshikure, S. A. ve Mekonnen, Z. (2025). Evaluating the total laboratory testing process and performance via quality indicators in clinical chemistry and hematology laboratories at Pawi General Hospital, Benishangul Gumz, Northwest Ethiopia: A prospective cross-sectional study. *Discover Health Systems, 4*, 85. doi:10.1007/s44250-025-00260-4

van Moll, C., Egberts, T., Wagner, C., Zwaan, L. ve ten Berg, M. (2023). The nature, causes, and clinical impact of errors in the clinical laboratory testing process leading to diagnostic error: A voluntary incident report analysis. *Journal of Patient Safety, 19*(8), 573–579. doi:10.1097/PTS.0000000000001166

West, J., Atherton, J., Costelloe, S. J., Pourmahram, G., Stretton, A. ve Cornes, M. (2017). Preanalytical errors in medical laboratories: A review of the available methodologies of data collection and analysis. *Annals of Clinical Biochemistry, 54*(1), 14–19. doi:10.1177/0004563216669384

VİTAMİN D METABOLİZMASI VE KLİNİK ÖNEMİ

Naime ÇELİK[1]

1. GİRİŞ

Vitamin D'nin keşfi, 20. yüzyılın başlarında raşitizm etiyolojisinin anlaşılmasıyla başlamış ve Sir Edward Mellanby ile McCollum gibi araştırmacıların çalışmaları sayesinde bu yağda çözünen bileşiğin beslenme ve metabolizma üzerindeki hayati önemi kanıtlanmıştır (Norman et al., 1982). 17. yüzyılda morina balığı yağının raşitizm tedavisindeki kullanımıyla başlayan bu süreç, zamanla gün ışığının deri üzerindeki iyileştirici etkisinin keşfedilmesiyle tamamlanarak modern endokrinolojik anlayışın temelini atmıştır (Bendik et al., 2014; Holick, 2023). Vitamin D'nin 1921 yılında tanımlanmasından bu yana, kalsiyum homeostazı ve kemik sağlığı üzerindeki kritik rolü tıp dünyasının temel odak noktalarından biri olmuştur (Doğan & DOĞAN, 2019). Günümüzde ise D vitamini, iskelet sistemine olan etkilerinin yanı sıra hücre proliferasyonu ve immün fonksiyonların düzenlenmesi gibi çok sayıda ekstraskeletal süreçte ligand olarak görev yapan çok yönlü bir molekül olarak kabul edilmektedir (Bouillon et al., 2018).Günümüzde bir hormon gibi işlev gördüğü anlaşılan bu molekül, kalsiyum ve fosfor dengesini sağlamanın ötesinde, vücuttaki pek çok farklı hücrede bulunan reseptörleri aracılığıyla bağışıklık sistemi ve kronik hastalık patolojilerinde de etkin rol oynamaktadır (Alpdemir, 2019; Cemile & Neşe, 2020). Ancak

[1] Dr. Öğr. Üyesi, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Atatürk Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Diyaliz Programı, ORCID: 0000-0001-9814-0359.

bu hayati öneme rağmen, günümüzde D vitamini eksikliği hem Türkiye'de hem de küresel ölçekte yaygınlığı giderek artan bir halk sağlığı sorunu, hatta bir "küresel pandemi" olarak kabul edilmektedir (Çobanoğlu, 2020; Ersoy & Ersoy, 2019). Epidermal sentezin yanı sıra beslenme yoluyla alınan vitamin D, günümüzde sadece raşitizm ve osteomalazi gibi kemik hastalıklarının değil, aynı zamanda kardiyovasküler sistem, otoimmün bozukluklar ve çeşitli metabolik sendromların patogenezinde de önemli bir risk faktörü olarak tanımlanmaktadır (Fidan et al., 2014). Özellikle Türkiye'deki yetişkin poliklinik örneklemleri, bu hypovitaminosis durumunun cinsiyet ve mevsimsel faktörlerden bağımsız olarak geniş kitleleri etkilediğini ve klinik ciddiyetinin sıklıkla göz ardı edildiğini ortaya koymaktadır (Ciğerli et al., 2012).

2. VİTAMİN D'NİN YAPISI VE KAYNAKLARI

Vitamin D, sekonder alkol yapısında olan ve sterol çekirdeğinden türetilen, yağda çözünebilen bir vitamin grubu olup başlıca kolkalsiferol (D3) ve ergokalsiferol (D2) formları ile temsil edilmektedir (Pilz et al., 2018; Rizzoli, 2020). D3 vitamini, güneşin ultraviyole B ışınlarının etkisiyle insan derisindeki 7-dehidrokolesterolün dönüşümüyle endojen olarak sentezlenirken; ergokalsiferol olarak bilinen D2 vitamini, mantarların ve mayaların ergosterol içeriğinin yine UVB radyasyonuna maruz kalması sonucu dış kaynaklı olarak elde edilmektedir (Craveiro et al., 2019). Bu iki ana form, vücuda alındıktan sonra biyolojik olarak benzer işlevsel yolları izlese de, endojen sentez süreci D3 vitamininin serum konsantrasyonlarını yükseltmede daha verimli kabul edilmektedir

Gıda takviyeleri ve fortifiye edilmiş ürünler ise her iki formun da vücuda kazandırılmasında kullanılan temel farmasötik stratejilerdir (Craveiro et al., 2019).

Farmasötik preparatlarda, yüksek doz D3 içeren takviyeler genellikle daha stabil biyoyararlanım profilleri sunarken, D2 formları özellikle vegan diyetleri destekleyen sentetik kaynaklı formülasyonlarda tercih edilmektedir (Filho et al., 2022). Ancak biyolojik etkinlik açısından değerlendirildiğinde, D2 vitamininin plazma D vitamini bağlayıcı proteinine olan afinitesinin daha düşük olması ve kısa yarı ömrü, klinik uygulamalarda D3 formunun daha etkin bir terapötik ajan olarak konumlandırılmasına yol açmaktadır (Samanta, 2021). Süt, yumurta ve yağlı balıklar gibi doğal hayvansal kaynaklar D3 vitamini sağlarken, mantar gibi bitkisel ürünler ergokalsiferol açısından zenginlik sunmaktadır (Duman & Ün, 2018; Goldner et al., 2008). Ancak bu besin kaynakları tek başlarına yeterli miktarda vitamin desteği sağlamakta zorlandığından, endojen sentezi kısıtlı olan bireylerde eksiklik riskinin önlenmesi amacıyla kontrollü takviye kullanımı klinik bir zorunluluk arz etmektedir (Griffin et al., 2020). Ayrıca, kronik hastalıkların yönetimi ve spesifik popülasyonlardaki D vitamini yetersizliğini gidermek amacıyla geliştirilen yüksek doz farmasötik preparatlar, kalsitriol düzeylerini fizyolojik sınırlarda tutarak metabolik homeostazı optimize etmeyi hedeflemektedir (Alathari et al., 2020; Niforou et al., 2020).

D2 ve D3 vitaminlerinin metabolik süreçleri benzer görünse de, klinik çalışmalar D3 vitamininin özellikle aralıklı veya yüksek doz uygulamalarında D2 formuna göre serum düzeylerini korumada daha üstün bir profil sergilediğini göstermektedir

etkileyebilmektedir (Logan et al., 2012). Bu yapısal farklılıklar, iki formun vitamin D bağlayıcı protein ve reseptör etkileşimlerindeki biyolojik etkinliklerinin neden farklılaşabildiğine dair temel bir gerekçe sunmaktadır (Borel et al., 2013).

3. VİTAMİN D METABOLİZMASI

Vitamin D metabolizması, deride fotokimyasal sentez ile başlayan ve karaciğer ile böbreklerdeki enzimatik dönüşümlerle tamamlanan, sıkı bir şekilde regüle edilen çok aşamalı bir süreçtir. Güneş ışığına maruz kalan epidermisteki 7-dehidrokolesterolün UVB radyasyonunu soğurmasıyla başlayan bu süreç, kolekalsiferolün (vitamin D3) sentezlenmesini sağlamaktadır (Holick, 2008). Sentezlenen bu öncül molekül, dolaşıma katılarak vitamin D bağlayıcı globulin aracılığıyla karaciğere taşınır ve burada 25-hidroksilaz enzimi tarafından 25-hidroksivitamin D formuna dönüştürülür (Adavba, 2025; Walters, 1992). Serumda en stabil ve uzun ömürlü metabolit olan bu yapı, vücuttaki genel D vitamini düzeylerini yansıtan en güvenilir klinik göstergeyi oluşturmaktadır (Gombart, 2009). Daha sonra, bu ara form böbreklere ulaşarak burada 1α-hidroksilaz enzimi aracılığıyla biyolojik olarak en aktif form olan kalsitriole (1,25-dihidroksivitamin D) dönüştürülür (Schauber et al., 2007). Bu aşamada 1α-hidroksilaz aktivitesi, paratiroid hormonunun yanı sıra fibroblast büyüme faktörü-23 gibi moleküller tarafından negatif geri besleme mekanizmalarıyla hassas bir şekilde denetlenerek sistemik homeostazın sürdürülmesini sağlar (Kasarla et al., 2022).

Ayrıca, kalsitriolün biyolojik etkilerinin sona erdirilmesi amacıyla 24-hidroksilaz enzimi devreye girerek aktif formun inaktif olan kalsitroik aside yıkımını katalize eder ve böylece metabolik döngü kontrollü bir şekilde sonlandırılır

al., 2018; Kılınç et al., 2018). Bununla birlikte, CYP24A1 enzimi tarafından gerçekleştirilen bu 24-hidroksilasyon süreci, yüksek D vitamini seviyelerinde toksik etkileri önlemek adına kalsitriolün biyolojik aktivitesini sınırlandırarak hormonal dengenin korunmasında hayati bir görev üstlenmektedir (Deepika et al., 2025). Böbrek dışı dokularda bulunan CYP27B1 enzimi ise dolaşımdaki 25D düzeyine bağımlı olarak kalsitriolün lokal üretimini mümkün kılarak, endokrin sistemin genel homeostazının yanı sıra dokuya özgü yanıtların da düzenlenmesine katkıda bulunur (Bikle, 2010). Dolayısıyla bu süreç, D vitamininin yalnızca kalsiyum ve fosfor dengesini sağlamakla kalmayıp, immünomodülasyon gibi yerel hücresel mekanizmaları doğrudan etkileyen bir parakrin ve otokrin sinyal mekanizması olarak da çalıştığını göstermektedir (Argano et al., 2025).

Buna ek olarak, vitamin D'nin hem sistemik hem de lokal düzeyde sergilediği bu çok katmanlı metabolik aktivasyon, biyoyararlanımın doku spesifik ihtiyaçlara göre dinamik olarak optimize edilmesine olanak tanımaktadır (Bikle, 2012; Theobald et al., 2019). Öte yandan, D vitamini bağlayıcı protein ve albümin, dolaşımdaki D vitamini metabolitlerinin %99'undan fazlasını bağlayarak dokulara taşınmasında ve biyoyararlanımının modüle edilmesinde kritik bir taşıyıcı rol üstlenmektedir (Bikle & Schwartz, 2019). Dolaşımdaki bu metabolitlerin dokulara teslimatı, taşıyıcı proteinlere bağlı olmayan serbest fraksiyonun hücre içine girişi ve hedef dokulardaki spesifik vitamin D reseptörleri aracılığıyla genomik etkilerini göstermesiyle nihai biyolojik yanıtı oluşturmaktadır (Dankers et al., 2017; Rusińska et al., 2018). Bu biyolojik yanıtın devamlılığı, dolaşımdaki aktif metabolitlerin geri besleme döngüleri ve katabolik enzim ekspresyonu arasındaki hassas dengeye bağlıdır

stimüle ederek kalsitriol üretimini artırması ve buna karşılık FGF23 ile kalsitriolün CYP24A1 üzerinden katabolizmayı indükleyerek hormonal homeostazı korumasıyla sağlanmaktadır. Buna ek olarak, CYP24A1 enziminin doku düzeyindeki konstitütif ekspresyonu, kalsitriolün hücresel etkilerini sınırlandırarak kronik maruziyetin neden olabileceği sitotoksik riskleri minimize etmektedir (Dusso et al., 2021; Luo et al., 2012).

Sonuç olarak, D vitamini metabolizmasının bu karmaşık regülasyonu, iskelet sisteminin mineralizasyonundan immünolojik yanıtların modülasyonuna kadar vücudun tüm fizyolojik gereksinimlerini karşılayacak şekilde dinamik bir denge içerisinde yönetilmektedir (Turrubiates-Hernández et al., 2021; Xu et al., 2020). Bu dinamik süreç, D vitamininin sadece bir vitamin değil, sistemik kalsiyum ve fosfor homeostazını yöneten güçlü bir steroid hormon olduğunu kanıtlamaktadır (Cemile & Neşe, 2020). Bu metabolik yolak, kalsiyum ve fosfat dengesinin korunmasının yanı sıra, vitamin D reseptörlerinin varlığı sayesinde doku bazlı parakrin ve otokrin sinyal iletimiyle hücresel proliferasyon ve farklılaşma süreçlerinde de merkezi bir rol üstlenmektedir (Ji et al., 2026; Płudowski et al., 2017). Bununla birlikte, aktif 1,25-dihidroksivitamin D'nin genomik etkileri, hedef hücre çekirdeğinde transkripsiyon faktörü olarak işlev gören vitamin D reseptörüne bağlanarak spesifik gen bölgelerinin ekspresyonunu modüle etmesiyle gerçekleşmektedir (Chun et al., 2019; Haussler & McCain, 1977). Bu etkileşim sonucunda hücre içindeki gen ekspresyon profili yeniden şekillenerek, bağırsaklardan kalsiyum emiliminin artırılması ve kemik mineralizasyonunun desteklenmesi gibi fizyolojik süreçler aktive edilmektedir

kritik bir modülatör görevi görmektedir (Janjusevic et al., 2021). Bu sinyalizasyon yolağının etkinliği, hedef dokulardaki vitamin D reseptörlerinin yoğunluğu ile doğrudan ilişkili olup, iskelet sağlığının ötesinde hücresel proliferasyon ve apoptoz gibi kritik süreçlerin kontrolünde rol oynamaktadır (Schrumpf et al., 2020; Veldurthy et al., 2016). Özellikle kalsitriol, kalsiyum ve fosfatın intestinal emilimini artırarak ve kemik rezorpsiyonunu düzenleyerek mineral homeostazında merkezi bir aktör olarak işlev görmektedir (Young et al., 2022). Bu süreçte kalsitriol, osteoblastlar üzerinde bulunan vitamin D reseptörlerine bağlanarak kemik mineralizasyonunu teşvik ederken, serum kalsiyum seviyelerinin düşmesi durumunda paratiroid hormonu ile eşgüdümlü olarak kemik rezorpsiyonunu modüle eder (Lech et al., 2024; Zastulka et al., 2024).

Kemik dokusunun ötesinde, vitamin D sinyalizasyonu kas fonksiyonları üzerinde de etkili olup, miyositlerdeki reseptörleri aracılığıyla kas gücünün ve koordinasyonunun korunmasına katkıda bulunur (Boland, 1986; Bouillon et al., 2018). Ayrıca D vitamini; kardiyovasküler sistem, pankreatik beta hücreleri ve nörolojik dokular dahil olmak üzere 30'dan fazla farklı organda sergilediği düzenleyici etkilerle metabolik sendrom ve kronik inflamatuar süreçlerin yönetiminde de belirleyici bir rol üstlenmektedir (Gürbüz et al., 2015). Bu geniş spektrumlu işlevsellik, D vitamini reseptörlerinin vücuttaki yaygın dağılımı sayesinde steroid hormonun immün sistem fizyolojisinden hücre proliferasyonuna kadar birçok temel biyolojik süreçte aktif bir düzenleyici olarak rol almasını mümkün kılar

molekül olduğunu doğrulamaktadır (Aranow, 2011; Carlberg & Campbell, 2012).

4. VİTAMİN D'NİN ETKİ MEKANİZMASI

Vitamin D, etkilerini temel olarak hücre çekirdeğinde bulunan Vitamin D Reseptörü (VDR) aracılığıyla gerçekleştirerek genomik düzeyde geniş kapsamlı bir regülasyon ağı oluşturur (Voltan et al., 2023). VDR, steroid/tiroid hormon reseptörleri üst ailesine mensup bir nükleer reseptör olarak, aktif D vitamini ile bağlandığında retinoid X reseptörü ile heterodimer oluşturarak DNA üzerindeki spesifik vitamin D yanıt elemanlarına bağlanır (Nagpal et al., 2005). Bu kompleks yapı, hedef genlerin transkripsiyonunu başlatarak veya baskılayarak hücresel işlevleri epikgenetik ve moleküler düzeyde yönlendirir (Bildiren et al., 2018). Bu nükleer reseptörün neredeyse tüm insan dokularında eksprese edilmesi, onun insan genomundaki 1.000'den fazla genin transkripsiyonunu kontrol edebilmesine olanak tanır (Cutolo et al., 2023). Bu süreçte 1,25-dihidroksivitamin D3'ün reseptöre bağlanması, VDR'nin konformasyonel bir değişim geçirmesini tetikleyerek retinoid X reseptörü ile trimerik bir yapı oluşturmasına ve hedef genlerin promotor bölgelerindeki özgül DNA dizilerine bağlanmasına izin verir (Alam et al., 2016; Bhoora & Punchoo, 2020). Bu heterodimerik kompleks, ko-aktivatör veya ko-repressör proteinleri çekirdeğe çekerek kromatin yapısını yeniden şekillendirir ve böylece gen ekspresyonunda hücresel ihtiyaca göre hassas bir kontrol sağlar

denetler (Bouillon et al., 2008). Ayrıca, bu homeostatik döngü içerisinde vitamin D, parathormon ve FGF-23 ile koordineli çalışarak bağırsaklardan kalsiyum emilimini artırıp böbreklerden fosfor geri emilimini düzenlemek suretiyle mineral dengesini optimize eder (Arı, 2021). Buna ek olarak, vitamin D'nin kalsiyum ve fosfat üzerindeki bu düzenleyici etkisi, iskelet sisteminde tip I kolajen matrisinin normal mineralizasyonu için gerekli olan iyonik konsantrasyonların idamesinde hayati bir öneme sahiptir (Haussler et al., 1997).

Genomik düzenlemelerin ötesinde, VDR'nin hücre membranında yerleşik formları üzerinden gelişen non-genomik sinyal iletim yolları, sitoplazmik kalsiyum akışını modüle ederek hücre içi mesajlaşma ağlarını da hızla aktive edebilmektedir (Jiménez-Sousa et al., 2018). Bu karmaşık süreçte VDR-RXR heterodimeri, hedef genlerin promotor bölgelerindeki vitamin D yanıt elemanlarına bağlanarak transkripsiyonel makineyi spesifik lokuslara yönlendirir (Pascussi et al., 2005; Whitfield et al., 1995). Bu etkileşim süreci, histon modifikasyonlarını tetikleyen ko-regülatörlerin işe alınmasıyla kromatinin yeniden yapılandırılmasını ve RNA polimeraz II'nin hedeflenen bölgelere etkin bir şekilde yönlendirilmesini mümkün kılar (Hasan et al., 2023; Pike & Meyer, 2010). Bu moleküler etkileşim, hücrenin ihtiyaç duyduğu spesifik proteinlerin sentezini artırarak ya da baskılayarak, kalsiyum ve fosfat metabolizması gibi temel fizyolojik süreçlerde genomik düzeyde bir stabilizasyon sağlar (Ogunmwonyi et al., 2022; Portales-Castillo & Šimić, 2022).

Öte yandan, VDR ligand bağlanma bölgesindeki konformasyonel değişimler, AF-2 alanı üzerinden ko-aktivatörleri işe alarak transkripsiyonel aktiviteyi güçlendirirken, çekirdek içindeki kor-represör etkileşimleri ise gen susturma mekanizmaları aracılığıyla hücresel homeostazın hassas dengesini sağlamaktadır

birlikte, osteoblastlar tarafından salgılanan fibroblast büyüme faktörü 23, renal fosfor geri emilimini inhibe ederek D vitamini ile karşılıklı bir negatif geri bildirim döngüsü oluşturur ve böylece sistemik mineral homeostazını kritik bir denge noktasında korur (Jurutka et al., 2007). Ayrıca, 1,25-dihidroksivitamin D3'ün VDR üzerinden osteoblastlarda RANK-ligand ekspresyonunu artırması, kemik dokusunun remodelling süreçlerinde osteoklastogenezi düzenleyen kritik bir mekanizma olarak öne çıkmaktadır (Haussler et al., 2020). Dahası, epitelial kalsiyum kanallarının ekspresyonunu artırarak aktif bağırsak kalsiyum emilimini optimize eden bu sistem, VDR işlevinin kaybolması durumunda gelişen hipokalsemi ve sekonder hiperparatiroidizm gibi patolojilerin önlenmesinde merkezi bir rol oynamaktadır (Masuyama et al., 2006). Buna ek olarak, VDR genindeki polimorfizmlerin bireysel farklılıklar yarattığı göz önüne alındığında, bu reseptörün ekspresyon düzeyindeki varyasyonlar vitamin D'ye karşı verilen doku spesifik yanıtların belirlenmesinde kilit bir faktördür (Yang et al., 2018). Sonuç olarak, D vitamininin moleküler düzeydeki bu çok katmanlı düzenleyici mekanizmaları, hücresel sinyal iletiminden geniş kapsamlı gen ekspresyon modellerine kadar uzanan geniş bir fizyolojik yelpazeyi kontrol altında tutmaktadır (Christakos et al., 2015; Jones et al., 1998).

5. VİTAMİN D VE KEMİK SAĞLIĞI

Vitamin D, kalsiyum ve fosforun bağırsaklardan emilimini optimize ederek hidroksiapatit kristallerinin matris üzerine depolanmasını sağlayan kritik bir mineralizasyon sürecini yönetir. Yetersiz düzeylerde ise osteoid dokunun mineralizasyonu aksamakta, bu durum kemik yapısının mekanik direncini azaltarak çocuklarda raşitizme, erişkinlerde ise osteomalaziye zemin hazırlamaktadır. Ayrıca, uzun süreli

eksiklik sonucu azalan kemik yoğunluğu, kemik döngüsü süreçlerinde dengesizliğe yol açarak kemik yıkımının yapımına oranla artmasına ve nihayetinde osteoporoz riskinin yükselmesine neden olmaktadır (Álvarez et al., 2019). VDR aracılı sinyalizasyon, osteoblast ve osteoklastlar arasındaki iletişimi düzenleyen RANKL/OPG oranını kontrol ederek kemik döngüsünün dengelenmesinde ve iskelet bütünlüğünün sürdürülmesinde anahtar bir rol üstlenir (Ferrari et al., 2017). Bununla birlikte, D vitamini reseptör sinyallemesindeki genetik varyasyonlar veya ekspresyon kayıpları, kemik mineral homeostazını bozarak spesifik iskelet patolojilerinin gelişimine doğrudan katkıda bulunmaktadır (Pike et al., 2017). Öte yandan, kalsiyum emilimindeki bu bozulma ikincil hiperparatiroidizmi tetikleyerek kemik döngüsünü daha da hızlandırmakta ve kırık riskini önemli ölçüde artırmaktadır (Çubukçu et al., 2019).

D vitamini yetersizliği klinik olarak çocuklarda raşitizm, erişkinlerde ise osteomalazi gibi kemik dokusunun mineralizasyon bozukluklarına ve ciddi iskelet deformitelerine yol açarak yaşam kalitesini doğrudan tehdit etmektedir (Çobanoğlu, 2020). Bu patolojiler, osteoblastik aktivitenin aksaması ve osteoid dokunun kalsifikasyonundaki başarısızlık neticesinde kemik kırılganlığının artmasına, dolayısıyla klinik düzeyde ağrı ve hareket kısıtlılığına neden olmaktadır (Pilz et al., 2019). Buna ek olarak, D vitamini eksikliği ile ilişkili olan bu mineralizasyon bozuklukları, kemik döngüsünün dengesini bozarak uzun vadede osteoporozun progresyonunu hızlandırmakta ve iskelet kırılganlığını daha da belirginleştirmektedir

gelişmekte olan iskelet yapısında genel bir zayıflığa neden olurken, yetişkinlerde epifiz plaklarının kapanmasının ardından osteomalaziye özgü kemik yumuşamasıyla klinik tabloyu derinleştirmektedir (Romano et al., 2023). Ayrıca, kalsiyum eksikliği durumlarında yüksek 1,25-dihidroksivitamin D konsantrasyonları kemik rezorpsiyonunu uyararak mineral birikimini baskılayabilmekte, bu da dolaylı yoldan kemik kalitesinde azalmaya neden olabilmektedir (Giustina et al., 2020).

Özellikle histomorfometrik analizler, vitamin D eksikliğinin iliyak krest biyopsilerinde patolojik düzeyde osteoid artışına ve mineralizasyon defektlerine yol açtığını ortaya koyarak, iskelet sağlığının biyobelirteçlerle yakından izlenmesi gerekliliğini vurgulamaktadır (Priemel et al., 2009). Dolayısıyla, vitamin D'nin RANK/RANKL sistemi üzerinden osteoklastogenezi düzenleyen kritik rolü, kemik döngüsünün dengelenmesi ve yeterli mineralizasyonun sağlanması açısından temel bir fizyolojik mekanizma olarak öne çıkmaktadır. Bu biyokimyasal düzenleme sayesinde D vitamini, dolaşımdaki kalsiyum ve fosfat düzeylerini sürdürerek kollajen kemik matriksinin pasif mineralizasyonu için gereken süpersatüre ortamı muhafaza eder (Cavalier et al., 2008; Rusińska et al., 2018). Bu homeostatik dengenin bozulması, bağırsaklardan kalsiyum ve fosfor emiliminin dramatik şekilde azalmasına neden olarak kemik matriksinin yetersiz kalsifikasyonuna, dolayısıyla da iskelet deformitelerine zemin hazırlar (Holick, 2006).

6. VİTAMİN D VE KEMİK DIŞI ETKİLER

D vitamininin reseptörleri, iskelet sisteminin ötesinde bağışıklık hücreleri, pankreatik beta hücreleri ve kardiyomiyositler dahil olmak üzere vücudun neredeyse tüm

dokularında yaygın bir ekspresyon göstermektedir. Bu durum, D vitamininin sadece kalsiyum homeostazını değil, aynı zamanda immün modülasyon ve hücresel proliferasyon gibi karmaşık biyolojik süreçleri de düzenleyen hormonal bir ajan olarak görev yaptığını kanıtlamaktadır (Bouillon et al., 2008). Özellikle ekstrarenal dokulardaki 25D-1α-hidroksilaz enzimi, dolaşımdaki D vitaminini yerel olarak aktif 1,25-dihidroksivitamin D formuna dönüştürerek, bu dokularda otokrin veya parakrin mekanizmalar üzerinden spesifik biyolojik yanıtları tetikleyebilmektedir (Lamberg-Allardt et al., 2013; Płudowski et al., 2017). Bu geniş doku dağılımı sayesinde vitamin D, T lenfositlerin aktivasyonunu baskılayarak otoimmün hastalıklara karşı koruyucu bir immün modülatör görevi üstlenmekte ve hücre içi pro-apoptotik yollarla karsinogenez riskini azaltmaktadır (Basit, 2013; Yavuz et al., 2014).

Ayrıca, D vitamininin kardiyovasküler sistem üzerindeki anti-hipertansif ve anti-inflamatuar etkileri, renin-anjiyotensin sistemi üzerinden kan basıncı regülasyonuna ve endotelyal fonksiyonların iyileştirilmesine katkı sağlayarak kronik hastalık patogenezinde kritik bir rol oynamaktadır (Holick, 2008; Tellioğlu & Başaran, 2013). Pankreastaki beta hücreleri üzerinde ise sitokin aracılı hasarı minimize ederek insülin sekresyonunu desteklemekte ve böylece metabolik sendrom ile tip 2 diyabet gelişimi riskini azaltan koruyucu bir mekanizma sergilemektedir (Sert et al., 2015). Buna ek olarak, D vitamininin nöroprotektif etkileri, beyin dokusundaki reseptörler aracılığıyla sitokin dengesini düzenleyerek nörodejeneratif süreçlerin ve çeşitli nöropsikiyatrik bozuklukların patogenezinde kritik bir rol oynamaktadır (Keskin et al., 2019). Nitekim D vitamininin biyolojik sistemlerdeki bu pleiotropik etkisi, kalsiyum-fosfor-PTH ekseni ile immün yanıt ve oksidatif stres yolakları arasındaki çapraz etkileşimi koordine ederek homeostatik bütünlüğü desteklemektedir

Sonuç olarak, D vitamininin bu pleiotropik biyolojik kapasitesi, yalnızca iskelet bütünlüğünü değil, aynı zamanda sistemik inflamasyonun ve kronik metabolik süreçlerin kontrolünde merkezi bir düzenleyici olarak fonksiyonel bir rol üstlendiğini ortaya koymaktadır (Gürbüz et al., 2015; Rosen et al., 2012). Bu kapsamlı biyolojik aktivite, söz konusu molekülün yetersizliğinin multipl skleroz, Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların yanı sıra çeşitli kanser türleri ve enfeksiyonlarla da güçlü bir korelasyon sergilemesinin temel nedenini açıklamaktadır (Adavba, 2025; Janjusevic et al., 2021).

Bu geniş kapsamlı biyolojik süreçlerin ışığında, klinik pratikte D vitamini eksikliğinin yönetimi, yalnızca iskelet sağlığını değil, aynı zamanda kronik hastalıkların immünolojik ve metabolik patogenezini önlemeye odaklanan bütüncül bir yaklaşımı zorunlu kılmaktadır (Rodríguez-Rivero & Medina, 2025; Zhang et al., 2021). Bu bağlamda, tedavi stratejileri belirlenirken hastanın serum 25D düzeylerinin yanı sıra eşlik eden kronik hastalıkların ve genetik polimorfizmlerin de göz önünde bulundurulması, kişiselleştirilmiş bir takviye rejimi için elzemdir (Srivastava & Tripathi, 2025; Sung et al., 2012).

Güncel klinik rehberler, serum 25-hidroksivitamin D seviyelerinin 30 ng/mL'nin üzerinde tutulmasının, özellikle nöroinflamatuar ve metabolik süreçlerde optimum koruma sağlayabileceğini öngörmektedir (Bäcker-Koduah et al., 2017). Bununla birlikte, standardize edilmiş ölçüm yöntemlerinin eksikliği nedeniyle farklı klinik çalışmalar arasında verilerin karşılaştırılmasında süregelen belirsizlikler, nörodejeneratif hastalıkların önlenmesinde bu takviyelerin etkinlik düzeylerinin daha kesin bir şekilde tanımlanması için yeni nesil araştırmalara duyulan ihtiyacı artırmaktadır

edilmesini gerektirmektedir (Sîrbe et al., 2022). Ayrıca, D vitamini takviyelerinin sistemik sağlığa olan katkılarının maksimize edilmesi amacıyla, güneş maruziyeti ve diyetin yetersiz kaldığı durumlarda farmakolojik yaklaşımların periyodik biyokimyasal izlem ile desteklenmesi, tedavi uyumunu ve klinik başarıyı belirleyen en önemli faktörler arasında yer almaktadır (Sobiński et al., 2025; Wimalawansa, 2024).

Özellikle yaşlı popülasyonda düşme riski, bilişsel fonksiyonların korunması ve mortalite oranlarının iyileştirilmesi gibi kritik klinik parametreler, takviye stratejilerinin bilimsel temelli bir standartta yürütülmesinin önemini vurgulamaktadır (Giustina et al., 2024; Ruscalleda, 2023). Dolayısıyla, farmakolojik müdahalelerin etkinliği, serum 25-hidroksivitamin D düzeylerinin 20 ng/mL'nin altına düşmesini engelleyen proaktif bir tarama protokolü ile güçlendirilmelidir (Doğan & DOĞAN, 2019; Holick, 2008). Bu proaktif yaklaşım, özellikle kardiyovasküler hastalıklar ve çeşitli enfeksiyon risklerinin artış gösterdiği serum 25-hidroksivitamin D düzeyleri altındaki popülasyonlarda morbiditeyi azaltmada temel bir strateji olarak değerlendirilmektedir (Bouillon et al., 2013). Buna karşın, klinik rehberlerin çoğunlukla yalnızca iskelet sağlığına odaklanması, ekstra-skeletal yararların ve optimal serum eşik değerlerinin göz ardı edilmesine yol açarak modern tıp uygulamalarında bir paradigma eksikliğine neden olmaktadır (Grant et al., 2025). Bu durum, D vitamini düzeylerinin hem eksiklik hem de fazlalık durumlarında görülebilen "U-eğrisi" ilişkisinin klinik yönetimde yarattığı riskler nedeniyle, evrensel dozaj önerilerinin ötesine geçilerek daha spesifik ve hedefe yönelik takviye protokollerinin geliştirilmesini gerektirmektedir

aralıklara çıkarmanın, kardiyovasküler olaylar veya maligniteler gibi kronik hastalıkların önlenmesinde ek bir klinik fayda sağlamadığını göstermektedir (Bouillon et al., 2021). Bu bulgular, yüksek doz takviyelerin iskelet dışı sağlık çıktıları üzerindeki etkisine dair mevcut kanıtların tutarsızlığını vurgularken, optimal seviyelerin belirlenmesinde "herkese uyan tek model" yerine bireyselleştirilmiş, hassas tıp yaklaşımlarının benimsenmesi gerektiğini ortaya koymaktadır (Kong, 2026).

Sonuç olarak, D vitamini yönetimi, serum 25-hidroksivitamin D ölçümlerinin klinik bağlamla entegre edildiği, potansiyel risklerin ve faydaların dikkatle tartıldığı dinamik bir süreç olarak ele alınmalıdır (Dina et al., 2026; Henríquez et al., 2025). Gelecekteki çalışmaların, sadece serum 25-hidroksivitamin D düzeylerine odaklanmak yerine, vitamin D endokrin sisteminin tüm bileşenlerini ve fizyolojik olarak anlamlı doz yanıtlarını içerecek şekilde tasarlanması kritik öneme sahiptir (Essa, 2024).

KAYNAKÇA

Adavba, S. A. (2025a). Vitamin D Metabolism in Health and Disease. *Asian Journal of Biochemistry Genetics and Molecular Biology*, *17*(4), 79–91. https://doi.org/10.9734/ajbgmb/2025/v17i4460

Adavba, S. A. (2025b). *Vitamin D Metabolism in Health and Disease: From Classical Functions to Pleiotropic Actions and Implications for Chronic Kidney Disease* (pp. 19–41). https://doi.org/10.9734/bpi/aodhr/v7/6482

Alam, U., Arul-Devah, V., Javed, S., & Malik, R. A. (2016). Vitamin D and Diabetic Complications: True or False Prophet? *Diabetes Therapy*, *7*(1), 11–26. https://doi.org/10.1007/s13300-016-0159-x

Alathari, B. E., Aji, A. S., Kalpana, C. A., & Vimaleswaran, K. S. (2020). Vitamin D pathway-related gene polymorphisms and their association with metabolic diseases: A literature review. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, *19*(2), 1701–1729. https://doi.org/10.1007/s40200-020-00561-w

Alpdemir, M. (2019). Vitamin D deficiency status in Turkey: A meta-analysis. *International Journal of Medical Biochemistry/International Journal of Medical Biochemistry* : https://doi.org/10.14744/ijmb.2019.04127

Alswailmi, F. K., Shah, S. I. A., & Nawaz, H. (2020). Immunomodulatory Role Of Vıtamın D: Clınıcal Implıcatıons In Infectıons And Autoımmune Dısorders. *Gomal Journal of Medical Sciences*, *18*(3), 132–138. https://doi.org/10.46903/gjms/18.03.841

Álvarez, N., Aguilar-Jiménez, W., & Rugeles, M. T. (2019). The Potential Protective Role of Vitamin D Supplementation

on HIV-1 Infection. *Frontiers in Immunology*, *10*, 2291. https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02291

Aranow, C. (2011). Vitamin D and the Immune System. *Journal of Investigative Medicine*, *59*(6), 881–886. https://doi.org/10.2310/jim.0b013e31821b8755

Argano, C., Torres, A., Orlando, V., Cangialosi, V., Maggio, D., Pollicino, C., & Corrao, S. (2025). Molecular Insight into the Role of Vitamin D in Immune-Mediated Inflammatory Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, *26*(10), 4798. https://doi.org/10.3390/ijms26104798

Arı, M. (2021). Vitamin D ve Antikanserojenik Etkileri. *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, *5*(1), 136–146. https://doi.org/10.46237/amusbfd.740270

Bäcker-Koduah, P., Paul, F., & Dörr, J.-M. (2017). Vitamin D in the prevention, prediction and treatment of neurodegenerative and neuroinflammatory diseases. *The EPMA Journal*, *8*(4), 313–325. https://doi.org/10.1007/s13167-017-0120-8

Basit, S. (2013). Vitamin D in health and disease: a literature review. *British Journal of Biomedical Science*, *70*(4), 161–172. https://doi.org/10.1080/09674845.2013.11669951

Bendik, I., Friedel, A., Roos, F. F., Weber, P., & Eggersdorfer, M. (2014). Vitamin D: a critical and essential micronutrient for human health. *Frontiers in Physiology*, *5*, 248. https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00248

Bhoora, S., & Punchoo, R. (2020). Policing Cancer: Vitamin D Arrests the Cell Cycle. *International Journal of*

Molecular Sciences, *21*(23), 9296. https://doi.org/10.3390/ijms21239296

Bikle, D. D. (2010a). Vitamin D: newly discovered actions require reconsideration of physiologic requirements. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, *21*(6), 375–384. https://doi.org/10.1016/j.tem.2010.01.003

Bikle, D. D. (2012). Vitamin D and Bone. *Current Osteoporosis Reports*, *10*(2), 151–159. https://doi.org/10.1007/s11914-012-0098-z

Bikle, D. D., & Schwartz, J. B. (2019). Vitamin D Binding Protein, Total and Free Vitamin D Levels in Different Physiological and Pathophysiological Conditions. *Frontiers in Endocrinology*, *10*, 317. https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00317

Bildiren, Ö., Cevatemre, B., Ay, E. N., Özen, G., Hepokur, C., Erkısa, M., Küçükhüseyin, Ö., Ulukaya, E., Kuruca, S. E., & Yaylım, İ. (2018a). An Investigation of Anticancer Effects of Doxorubicin and Calcitriol Combination on MCF-7 Cells. *Experimed*, 41–46. https://doi.org/10.26650/experimed.2018.18001

Bivona, G., Agnello, L., Bellia, C., Iacolino, G., Scazzone, C., Sasso, B. L., & Ciaccio, M. (2019). Non-Skeletal Activities of Vitamin D: From Physiology to Brain Pathology. *Medicina*, *55*(7), 341. https://doi.org/10.3390/medicina55070341

Boland, R. (1986). Role of Vitamin D in Skeletal Muscle Function*. *Endocrine Reviews*, *7*(4), 434–448. https://doi.org/10.1210/edrv-7-4-434

Borel, P., Caillaud, D., & Cano, N. (2013). Vitamin D Bioavailability: State of the Art. *Critical Reviews in*

Food Science and Nutrition, *55*(9), 1193–1205. https://doi.org/10.1080/10408398.2012.688897

Bouillon, R., Bischoff-Ferrari, H. A., & Willett, W. C. (2008). Vitamin D and Health: Perspectives From Mice and Man. *Journal of Bone and Mineral Research*, *23*(7), 974–979. https://doi.org/10.1359/jbmr.080420

Bouillon, R., Carmeliet, G., Verlinden, L., Etten, E. van, Verstuyf, A., Luderer, H. F., Lieben, L., Mathieu, C., & Demay, M. B. (2008). Vitamin D and Human Health: Lessons from Vitamin D Receptor Null Mice. *Endocrine Reviews*, *29*(6), 726–776. https://doi.org/10.1210/er.2008-0004

Bouillon, R., Manousaki, D., Rosen, C. J., Trajanoska, K., Rivadeneira, F., & Richards, J. B. (2021). The health effects of vitamin D supplementation: evidence from human studies. *EUR Research Repository (Erasmus University Rotterdam)*, *18*(2), 96–110. https://doi.org/10.1038/s41574-021-00593-z

Bouillon, R., Marcocci, C., Carmeliet, G., Bikle, D. D., White, J. H., Dawson-Hughes, B., Lips, P., Munns, C. F., Lazaretti-Castro, M., Giustina, A., & Bilezikian, J. P. (2018). Skeletal and Extraskeletal Actions of Vitamin D: Current Evidence and Outstanding Questions. *Endocrine Reviews*, *40*(4), 1109–1151. https://doi.org/10.1210/er.2018-00126

Bouillon, R., Schoor, N. M. van, Gielen, E., Boonen, S., Mathieu, C., Vanderschueren, D., & Lips, P. (2013). Optimal Vitamin D Status: A Critical Analysis on the Basis of Evidence-Based Medicine. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *98*(8). https://doi.org/10.1210/jc.2013-1195

Brown, A. J., Dusso, A., & Slatopolsky, E. (1999). Vitamin D. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, *277*(2). https://doi.org/10.1152/ajprenal.1999.277.2.f157

Carlberg, C., & Campbell, M. J. (2012). Vitamin D receptor signaling mechanisms: Integrated actions of a well-defined transcription factor. *Steroids*, *78*(2), 127–136. https://doi.org/10.1016/j.steroids.2012.10.019

Cavalier, É., Delanaye, P., Chapelle, J.-P., & Souberbielle, J. (2008). Vitamin D: current status and perspectives. *Open Repository and Bibliography (University of Liège)*, *47*(2), 120–127. https://doi.org/10.1515/cclm.2009.036

Cemile, B., & Neşe, T. (2020). D Vitamini Sentezi, Metabolizması Ve Sağlık Üzerine Etkileri. *DergiPark (Istanbul University)*. https://dergipark.org.tr/tr/pub/gsbdergi/issue/60701/809557

Christakos, S., Dhawan, P., Verstuyf, A., Verlinden, L., & Carmeliet, G. (2015). Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiological Reviews*, *96*(1), 365–408. https://doi.org/10.1152/physrev.00014.2015

Chun, R. F., Shieh, A., Gottlieb, C., Yacoubian, V., Wang, J., Hewison, M., & Adams, J. S. (2019). Vitamin D Binding Protein and the Biological Activity of Vitamin D. *Frontiers in Endocrinology*, *10*, 718. https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00718

Cianferotti, L., Bertoldo, F., Bischoff-Ferrari, H. A., Bruyère, O., Cooper, C., Cutolo, M., Kanis, J. A., Kaufman, J., Reginster, J., Rizzoli, R., & Brandi, M. L. (2017). Vitamin D supplementation in the prevention and management of major chronic diseases not related to

mineral homeostasis in adults: research for evidence and a scientific statement from the European society for clinical and economic aspects of osteoporosis and osteoarthritis (ESCEO). *Endocrine*, *56*(2), 245–261. https://doi.org/10.1007/s12020-017-1290-9

Ciğerli, Ö., Parıldar, H., Ünal, A. D., Tarçın, Ö., Erdal, R., & Demirağ, N. G. (2012). Vitamin D deficiency is a problem for adult out-patients? A university hospital sample in Istanbul, Turkey. *Public Health Nutrition*, *16*(7), 1306–1313. https://doi.org/10.1017/s1368980012003588

Craveiro, V., Araújo, J., Santos, A., & Ramos, E. (2019). Vitamin D - from the pro-hormone to the biological actions. *Open Repository of the University of Porto (University of Porto)*, *19*, 50–54. https://doi.org/10.21011/apn.2019.1909

Cutolo, M., Smith, V., Paolino, S., & Gotelli, E. (2023). Involvement of the secosteroid vitamin D in autoimmune rheumatic diseases and COVID-19. *Nature Reviews Rheumatology*, *19*(5), 265–287. https://doi.org/10.1038/s41584-023-00944-2

Çobanoğlu, G. (2020). D Vitamininin Biyolojisi ve Doğal Kaynakları. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, *11*, 380–391. https://doi.org/10.29048/makufebed.778498

Çubukçu, M., Acı, R., & Müderrisoğlu, S. (2019). Evaluation of Vitamin D Levels According to Age, Sex and Seasonal Characteristics in Samsun. *Ankara Medical Journal*, 769–775. https://doi.org/10.17098/amj.652002

Dankers, W., Colin, E. M., Hamburg, J. P. van, & Lubberts, E. (2017). Vitamin D in Autoimmunity: Molecular

Mechanisms and Therapeutic Potential. *Frontiers in Immunology*, *7*, 697. https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00697

Deepika, D., Kumari, A., Singh, S., Ahmad, M. F., Chaki, D., Poria, V., Kumar, S., Saini, N., Yadav, N., Sangwan, N. S., BinMowyna, M. N., Alsharari, Z. D., Kambal, N., Min, J. H., & Raposo, A. (2025). Vitamin D: recent advances, associated factors, and its role in combating non-communicable diseases. *Npj Science of Food*, *9*(1), 100. https://doi.org/10.1038/s41538-025-00460-5

Dina, M. A., Hanif, A., Arshed, A., Karamat, A., Basit, M. S., Bhutta, M. A., & Ehsan, M. O. (2026). Updated perspectives on vitamin D deficiency, screening, supplementation and clinical guidance. *Cardiovascular Diabetology – Endocrinology Reports*, *12*(1). https://doi.org/10.1186/s40842-026-00300-9

Doğan, M., & Doğan, A. G. (2019). Vitamin D yetersizliği ve eksikliğine güncel yaklaşım. *Journal of Health Sciences and Medicine*, *2*(2), 58–61. https://doi.org/10.32322/jhsm.496326

Duman, İ., & Ün, İ. (2018). Sekosteroit hormon olarak D vitamini ve kanser ilişkisi. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*, *9*(1), 19–29. https://doi.org/10.31020/mutftd.456806

Dusso, A., Bauerle, K. T., & Bernal-Mizrachi, C. (2021). Non-classical Vitamin D Actions for Renal Protection. *Frontiers in Medicine*, *8*, 790513. https://doi.org/10.3389/fmed.2021.790513

Ersoy, C., & Ersoy, A. (2019). Vitamin D Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, *45*(2), 219–223. https://doi.org/10.32708/uutfd.529506

Essa, H. A. (2024). Potential Role of Vitamin D in Health and Disease: A literature Review. *Egyptian Journal of Chemistry*, *0*(0), 0. https://doi.org/10.21608/ejchem.2024.257544.9033

Ferrari, D., Lombardi, G., & Banfi, G. (2017). Concerning the vitamin D reference range: pre-analytical and analytical variability of vitamin D measurement. *Biochemia Medica*, *27*(3), 30501. https://doi.org/10.11613/bm.2017.030501

Fidan, F., Alkan, B. M., & Tosun, A. (2014). Çağın Pandemisi: D Vitamini Eksikliği ve Yetersizliği. *Turkish Journal of Osteoporosis*, *20*(2), 71–74. https://doi.org/10.4274/tod.94830

Filho, R. R. D., Silva, M. T. F. da, Francescantonio, I. C. C. M., Borges, L. L., Neves, R. A., & Ribeiro, A. A. (2022). Impacto da pandemia de COVID-19 nos níveis de vitamina D em diferentes grupos etários. *Research Society and Development*, *11*(10). https://doi.org/10.33448/rsd-v11i10.32604

Fischer, V., Haffner-Luntzer, M., Amling, M., & Ignatius, A. (2018). Calcium and vitamin D in bone fracture healing and post-traumatic bone turnover. *European Cells and Materials*, *35*, 365–385. https://doi.org/10.22203/ecm.v035a25

Giustina, A., Adler, R. A., Binkley, N., Bollerslev, J., Bouillon, R., Dawson-Hughes, B., Ebeling, P. R., Feldman, D., Formenti, A. M., Lazaretti-Castro, M., Marcocci, C., Rizzoli, R., Sempos, C., & Bilezikian, J. P. (2020).

Consensus statement from 2nd International Conference on Controversies in Vitamin D. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, *21*(1), 89–116. https://doi.org/10.1007/s11154-019-09532-w

Giustina, A., Adler, R. A., Binkley, N., Bollerslev, J., Bouillon, R., Dawson-Hughes, B., Ebeling, P. R., Feldman, D., Formenti, A. M., Lazaretti-Castro, M., Marcocci, C., Rizzoli, R., Sempos, C., & Bilezikian, J. P. (2020). Consensus statement from 2nd International Conference on Controversies in Vitamin D. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, *21*(1), 89–116. https://doi.org/10.1007/s11154-019-09532-w

Giustina, A., Bilezikian, J. P., Adler, R. A., Banfi, G., Bikle, D. D., Binkley, N., Bollerslev, J., Bouillon, R., Brandi, M. L., Casanueva, F. F., Filippo, L. di, Donini, L. M., Ebeling, P. R., Fuleihan, G. E., Fassio, A., Frara, S., Jones, G., Marcocci, C., Martineau, A. R., … Virtanen, J. K. (2024). Consensus Statement on Vitamin D Status Assessment and Supplementation: Whys, Whens, and Hows. *Endocrine Reviews*, *45*(5), 625–654. https://doi.org/10.1210/endrev/bnae009

Goldner, W., Stoner, J. A., Thompson, J. S., Taylor, K., Larson, L., Erickson, J., & McBride, C. L. (2008). Prevalence of Vitamin D Insufficiency and Deficiency in Morbidly Obese Patients: A Comparison with Non-Obese Controls. *Obesity Surgery*, *18*(2), 145–150. https://doi.org/10.1007/s11695-007-9315-8

Gombart, A. F. (2009). The Vitamin D–Antimicrobial Peptide Pathway and its Role in Protection Against Infection. *Future Microbiology*, *4*(9), 1151–1165. https://doi.org/10.2217/fmb.09.87

Grant, W. B., Wimalawansa, S. J., Płudowski, P., & Cheng, R. Z. (2025). Vitamin D: Evidence-Based Health Benefits and Recommendations for Population Guidelines. *Nutrients*, *17*(2), 277. https://doi.org/10.3390/nu17020277

Griffin, G. E., Hewison, M., Hopkin, J. M., Kenny, R. A., Quinton, R., Rhodes, J. M., Subramanian, S., & Thickett, D. (2020). Vitamin D and COVID-19: evidence and recommendations for supplementation. *Royal Society Open Science*, *7*(12), 201912. https://doi.org/10.1098/rsos.201912

Guidance Paper. *Frontiers in Endocrinology*, *9*, 373. https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00373

Gürbüz, P., Yetiş, G., & Yakupoğulları, A. (2015). D Vitamini: İnsan Vücudunda Etkinliği Ve Eksikliği. *DergiPark (Istanbul University)*, *3*(2), 7–11. https://dergipark.org.tr/en/pub/inonusaglik/article/410353

Hasan, M., Oster, M., Reyer, H., Wimmers, K., & Fischer, D. (2023). Efficacy of dietary vitamin D3 and 25(OH)D3 on reproductive capacities, growth performance, immunity and bone development in pigs. *British Journal Of Nutrition*, *130*(8), 1298–1307. https://doi.org/10.1017/s0007114523000442

Haussler, M. R., & McCain, T. A. (1977). Basic and Clinical Concepts Related to Vitamin D Metabolism and Action. *New England Journal of Medicine*, *297*(18), 974–983. https://doi.org/10.1056/nejm197711032971804

Haussler, M. R., Haussler, C. A., Jurutka, P. W., Thompson, P. D., Hsieh, J., Remus, L. S., Selznick, S., & Whitfield, G. K. (1997). The vitamin D hormone and its nuclear

receptor: molecular actions and disease states. *PubMed*. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9379138

Haussler, M. R., Livingston, S., Sabir, Z., Haussler, C. A., & Jurutka, P. W. (2020). Vitamin D Receptor Mediates a Myriad of Biological Actions Dependent on Its 1,25-Dihydroxyvitamin D Ligand: Distinct Regulatory Themes Revealed by Induction of Klotho and Fibroblast Growth Factor-23. *JBMR Plus*, *5*(1). https://doi.org/10.1002/jbm4.10432

Henríquez, M. S., Suau, Ó. T., Romero, M.-J. G. de T., Hidalgo, M. J. C., Tarazona-Santabalbina, F. J., Etxebarría-Foronda, Í., Diaz-Guerra, G. M., & Valdés-Llorca, C. (2025). Rethinking Vitamin D Deficiency: Controversies and Practical Guidance for Clinical Management. *Nutrients*, *17*(22), 3573. https://doi.org/10.3390/nu17223573

Holick, M. F. (2008). The vitamin D deficiency pandemic and consequences for nonskeletal health: Mechanisms of action. *Molecular Aspects of Medicine*, *29*(6), 361–368. https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.08.008

Holick, M. F. (2023). The One-Hundred-Year Anniversary of the Discovery of the Sunshine Vitamin D3: Historical, Personal Experience and Evidence-Based Perspectives. *Nutrients*, *15*(3), 593. https://doi.org/10.3390/nu15030593

Janjusevic, M., Gagno, G., Fluca, A. L., Padoan, L., Beltrami, A. P., Sinagra, G., Moretti, R., & Aleksova, A. (2021). The peculiar role of vitamin D in the pathophysiology of cardiovascular and neurodegenerative diseases. *Life Sciences*, *289*, 120193. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.120193

Ji, Y., Bi, R., & Wang, L. (2026). Research on vitamin D metabolic regulation in the pathogenesis of related diseases. *Frontiers in Endocrinology, 17*. https://doi.org/10.3389/fendo.2026.1762302

Jiménez-Sousa, M. Á., Martínez, I., Medrano, L. M., Fernández-Rodríguez, A., & Resino, S. (2018). Vitamin D in Human Immunodeficiency Virus Infection: Influence on Immunity and Disease. *Frontiers in Immunology, 9*, 458. https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00458

Jones, G., Strugnell, S. A., & DeLuca, H. F. (1998). Current Understanding of the Molecular Actions of Vitamin D. *Physiological Reviews, 78*(4), 1193–1231. https://doi.org/10.1152/physrev.1998.78.4.1193

Jurutka, P. W., Bartik, L., Whitfield, G. K., Mathern, D. R., Barthel, T. K., Gurevich, M. I., Hsieh, J., Kaczmarska, M., Haussler, C. A., & Haussler, M. R. (2007). Vitamin D Receptor: Key Roles in Bone Mineral Pathophysiology, Molecular Mechanism of Action, and Novel Nutritional Ligands. *Journal of Bone and Mineral Research, 22*. https://doi.org/10.1359/jbmr.07s216

Kasarla, S. S., Garikapati, V., Kumar, Y., & Dodoala, S. (2022). Interplay of Vitamin D and CYP3A4 Polymorphisms in Endocrine Disorders and Cancer. *Endocrinology and Metabolism, 37*(3), 392–407. https://doi.org/10.3803/enm.2021.1349

Keskin, M., Ademoglu, E. N., Koca, A. O., & Ertuğrul, D. T. (2019). Investigation of Vitamin D Levels and Metabolic Parameters in Patients With Subclinical Hyperthyroidism. *Ankara Medical Journal*. https://doi.org/10.17098/amj.581991

Kılınç, M., SAĞER, H., Ganiyusufoğlu, E., DOBOĞLU, Y., & HANÇER, N. Ü. (2018). Yaz ve Kış Aylarını İçeren Dönemlerde Yaş ve Cins Gruplarına Göre D Vitamin [25(OH)D3] Düzey Değişimleri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, *13*(3), 77–80. https://doi.org/10.17517/ksutfd.416338

Kong, S. H. (2026). Revisiting the Role of Vitamin D in Fracture Prevention in the Era of Mega-Trials. *Endocrinology and Metabolism*. https://doi.org/10.3803/enm.2029.2938

Lamberg-Allardt, C., Brustad, M., Meyer, H. E., & Steingrímsdóttir, L. (2013). Vitamin D – a systematic literature review for the 5th edition of the Nordic Nutrition Recommendations. *Food & Nutrition Research*, *57*(1), 22671. https://doi.org/10.3402/fnr.v57i0.22671

Lech, M., Warpechowski, M., Wojszel, A., Rentflejsz, J., Świętek, M., & Wojszel, Z. B. (2024). Vitamin D Status among Patients Admitted to a Geriatric Ward—Are Recommendations for Preventing Its Deficiency Effective Enough? *Nutrients*, *16*(2), 193. https://doi.org/10.3390/nu16020193

Logan, V. F., Gray, A., Peddie, M. C., Harper, M. J., & Houghton, L. A. (2012). Long-term vitamin D3 supplementation is more effective than vitamin D2 in maintaining serum 25-hydroxyvitamin D status over the winter months. *British Journal Of Nutrition*, *109*(6), 1082–1088. https://doi.org/10.1017/s0007114512002851

Luo, W., Hershberger, P. A., Trump, D. L., & Johnson, C. S. (2012). 24-Hydroxylase in cancer: Impact on vitamin D-based anticancer therapeutics. *The Journal of Steroid*

Biochemistry and Molecular Biology, *136*, 252–257. https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2012.09.031

Masuyama, R., Stockmans, I., Torrekens, S., Looveren, R. V., Maes, C., Carmeliet, P., Bouillon, R., & Carmeliet, G. (2006). Vitamin D receptor in chondrocytes promotes osteoclastogenesis and regulates FGF23 production in osteoblasts. *Journal of Clinical Investigation*, *116*(12), 3150–3159. https://doi.org/10.1172/jci29463

Meza-Meza, M. R., Ruiz-Ballesteros, A. I., & Cruz-Mosso, U. D. la. (2020). Functional effects of vitamin D: From nutrient to immunomodulator. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *62*(11), 3042–3062. https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1862753

Nagpal, S., Na, S., & Rathnachalam, R. (2005). Noncalcemic Actions of Vitamin D Receptor Ligands. *Endocrine Reviews*, *26*(5), 662–687. https://doi.org/10.1210/er.2004-0002

Niforou, A., Konstantinidou, V., & Naska, A. (2020). Genetic Variants Shaping Inter-individual Differences in Response to Dietary Intakes—A Narrative Review of the Case of Vitamins. *Frontiers in Nutrition*, *7*, 558598. https://doi.org/10.3389/fnut.2020.558598

Nikolac, N., Pavičić, T., Vrtarić, A., Kopčinović, L. M., Mahečić, D. H., Bolanča, I., Culej, J., Miler, M., & Unić, A. (2020). In sickness and in health: pivotal role of vitamin D. *Biochemia Medica*, *30*(2), 202–214. https://doi.org/10.11613/bm.2020.020501

Norman, A. W., Roth, J., & Orci, L. (1982). The Vitamin D Endocrine System: Steroid Metabolism, Hormone Receptors, and Biological Response (Calcium Binding

Proteins)*. *Endocrine Reviews*, *3*(4), 331–366. https://doi.org/10.1210/edrv-3-4-331

Ogunmwonyi, I., Adebajo, A., & Wilkinson, J. M. (2022). The genetic and epigenetic contributions to the development of nutritional rickets. *Frontiers in Endocrinology*, *13*, 1059034. https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1059034

P., Pineau, T., Saric, J., Navarro, F. G., Maurel, P., & Vilarem, M. J. (2005). Possible involvement of pregnane X receptor–enhanced CYP24 expression in drug-induced osteomalacia. *Journal of Clinical Investigation*, *115*(1), 177–186. https://doi.org/10.1172/jci21867

Pascussi, J., Robert, A., Nguyen, M. N., Walrant-Debray, O., Garabédian, M., Martin, P. G.

Pike, J. W., & Christakos, S. (2017). Biology and Mechanisms of Action of the Vitamin D Hormone. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, *46*(4), 815–843. https://doi.org/10.1016/j.ecl.2017.07.001

Pike, J. W., & Meyer, M. B. (2010). The Vitamin D Receptor: New Paradigms for the Regulation of Gene Expression by 1,25-Dihydroxyvitamin D3. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, *39*(2), 255–269. https://doi.org/10.1016/j.ecl.2010.02.007

Pilz, S., März, W., Cashman, K. D., Kiely, M., Whiting, S. J., Holick, M. F., Grant, W. B., Płudowski, P., Hiligsmann, M., Trummer, C., Theiler-Schwetz, V., Lerchbaum, E., Pandis, M., Tomaschitz, A., Grübler, M., Gaksch, M., Verheyen, N., Hollis, B. W., Rejnmark, L., … Zittermann, A. (2018). Rationale and Plan for Vitamin D Food Fortification: A Review and Guidance Paper. *Frontiers in Endocrinology*, *9*, 373. https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00373

Pilz, S., Zittermann, A., Trummer, C., Theiler-Schwetz, V., Lerchbaum, E., Keppel, M. H., Grübler, M., März, W., & Pandis, M. (2019). Vitamin D testing and treatment: a narrative review of current evidence. *Endocrine Connections*, *8*(2). https://doi.org/10.1530/ec-18-0432

Płudowski, P., Holick, M. F., Grant, W. B., Konstantynowicz, J., Mascarenhas, M. R., Haq, A., Povoroznyuk, V., Balatska, N., Barbosa, A. P., Каронова, Т. Л., Rudenka, E., Misiorowski, W., Захарова, И. Н., Rudenka, A., Łukaszkiewicz, J., Marcinowska-Suchowierska, E., Łaszcz, N., Abramowicz, P., Bhattoa, H. P., & Wimalawansa, S. J. (2017). Vitamin D supplementation guidelines. *University of Debrecen Electronic Archive (University of Debrecen)*, *175*, 125–135. https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.01.021

Portales-Castillo, I., & Šimić, P. (2022). PTH, FGF-23, Klotho and Vitamin D as regulators of calcium and phosphorus: Genetics, epigenetics and beyond. *Frontiers in Endocrinology*, *13*, 992666. https://doi.org/10.3389/fendo.2022.992666

Priemel, M., Domarus, C. von, Klatte, T. O., Keßler, S., Schlie, J., Meier, S., Proksch, N., Pastor, F., Netter, C., Streichert, T., Püschel, K., & Amling, M. (2009). Bone mineralization defects and vitamin D deficiency: Histomorphometric analysis of iliac crest bone biopsies and circulating 25-hydroxyvitamin D in 675 patients. *Journal of Bone and Mineral Research*, *25*(2), 305–312. https://doi.org/10.1359/jbmr.090728

Rizzoli, R. (2020). Vitamin D supplementation: upper limit for safety revisited? *Aging Clinical and Experimental Research*, *33*(1), 19–24. https://doi.org/10.1007/s40520-020-01678-x

Rodríguez-Rivero, M., & Medina, M. Á. (2025). Vitamin D as a Systemic Regulatory Axis: From Homeostasis to Multiorgan Disease. *Biomedicines*, *13*(11), 2733. https://doi.org/10.3390/biomedicines13112733

Romano, F., Serpico, D., Cantelli, M., Sarno, A. D., Dalia, C., Arianna, R., Lavorgna, M., Colao, A., & Somma, C. D. (2023). Osteoporosis and dermatoporosis: a review on the role of vitamin D. *Frontiers in Endocrinology*, *14*, 1231580. https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1231580

Rosen, C. J., Adams, J. S., Bikle, D. D., Black, D. M., Demay, M. B., Manson, J. E., Murad, M. H., & Kovács, C. S. (2012). The Nonskeletal Effects of Vitamin D: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocrine Reviews*, *33*(3), 456–492. https://doi.org/10.1210/er.2012-1000

Ruscalleda, R. M. I. (2023). Vitamina D - Aspectos Fisiológicos, Nutricionais, Imunológicos, Genéticos. Ações em doenças autoimunes, tumorais, infecciosas. Funções musculoesqueléticas e cognitivas. *Revista de Medicina*, *102*(3). https://doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v102i3e-210547

Rusińska, A., Płudowski, P., Walczak, M., Borszewska-Kornacka, M. K., Bossowski, A., Chlebna-Sokół, D., Czech-Kowalska, J., Dobrzańska, A., Franek, E., Helwich, E., Jackowska, T., Kalina, M., Konstantynowicz, J., Książyk, J., Lewiński, A., Łukaszkiewicz, J., Marcinowska-Suchowierska, E., Mazur, A., Michałus, I., … Zygmunt, A. (2018). Vitamin D Supplementation Guidelines for General Population and Groups at Risk of Vitamin D Deficiency in Poland—Recommendations of the Polish Society of Pediatric Endocrinology and Diabetes and the Expert Panel With

Participation of National Specialist Consultants and Representatives of Scientific Societies—2018 Update. *Frontiers in Endocrinology*, *9*, 246. https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00246

Samanta, S. (2021). Vitamin D and immunomodulation in the skin: a useful affirmative nexus. *Exploration of Immunology*. https://doi.org/10.37349/ei.2021.00009

Schauber, J., Dorschner, R. A., Coda, A. B., Büchau, A. S., Liu, P. T., Kiken, D. A., Helfrich, Y., Kang, S., Elalieh, H., Steinmeyer, A., Zügel, U., Bikle, D. D., Modlin, R. L., & Gallo, R. L. (2007). Injury enhances TLR2 function and antimicrobial peptide expression through a vitamin D–dependent mechanism. *Journal of Clinical Investigation*, *117*(3), 803–811. https://doi.org/10.1172/jci30142

Schrumpf, J. A., Does, A. M. van der, & Hiemstra, P. S. (2020). Impact of the Local Inflammatory Environment on Mucosal Vitamin D Metabolism and Signaling in Chronic Inflammatory Lung Diseases. *Frontiers in Immunology*, *11*, 1433. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01433

Sert, H., Çetinkaya, S., & Aygın, D. (2015). D Vitaminin Obezite, Diabetes Mellitus, Hipertansiyon ve Kanser İle İlişkisi. *DergiPark (Istanbul University)*, *1*(4), 143–149. http://dergipark.gov.tr/johr/issue/10028/123749

Sîrbe, C., Rednic, S., Grama, A., & Pop, T. L. (2022). An Update on the Effects of Vitamin D on the Immune System and Autoimmune Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(17), 9784. https://doi.org/10.3390/ijms23179784

Sobiński, A., Sadowska, A., Piasecka, A., Miśkiewicz, J., Dudek, A., Pietrusińska, P., Moder, J., Dziewierz, A.,

Kwaśniewska, P., & Śliwa-Tytko, P. (2025). Vitamin D Deficiency – A Multifaceted Impact on Bone Health and Chronic Disease Risk. *Quality in Sport, 40*, 59501. https://doi.org/10.12775/qs.2025.40.59501

Souberbielle, J.-C., Body, J.-J., Lappe, J. M., Plebani, M., Shoenfeld, Y., Wang, T. J., Bischoff-Ferrari, H. A., Cavalier, É., Ebeling, P. R., Fardellone, P., Gandini, S., Gruson, D., Guérin, A. P., Heickendorff, L., Hollis, B. W., Ish-Shalom, S., Jean, G., Landenberg, P. von, Largura, Á., … Zittermann, A. (2010). Vitamin D and musculoskeletal health, cardiovascular disease, autoimmunity and cancer: Recommendations for clinical practice. *Autoimmunity Reviews*, *9*(11), 709–715. https://doi.org/10.1016/j.autrev.2010.06.009

Srivastava, V., & Tripathi, A. K. (2025). Vitamin D: The Conclusion and Future Prospective. In *BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS eBooks* (pp. 117–137). https://doi.org/10.2174/9789815324006125010010

Sung, C., Liao, M.-T., Lu, K., & Wu, C. (2012). Role of Vitamin D in Insulin Resistance. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, *2012*, 1–11. https://doi.org/10.1155/2012/634195

Tellioğlu, A., & Başaran, S. (2013). Güncel bilgiler ışığında Vitamin D. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, *22*(2), 259–271. https://doi.org/10.17827/aktd.04385

Theobald, J., Maaty, M. A. A. el, Kusterer, N., Wetterauer, B., Wink, M., Cheng, X., & Wölfl, S. (2019). In vitro metabolic activation of vitamin D3 by using a multi-compartment microfluidic liver-kidney organ on chip platform. *Scientific Reports*, *9*(1), 4616. https://doi.org/10.1038/s41598-019-40851-9

Tsekhmistrenko, S., Bityutskyy, V., Tsekhmistrenko, O., Tokarchuk T., Savchuk, L., Harkavenko, V., … Oliynyk, S. (2026). The regulatory and pleiotropic role of vitamin D. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, *17*(2), e26035. https://doi.org/10.15421/0226035

Turrubiates-Hernández, F. J., Sánchez-Zuno, G. A., González-Estévez, G., Hernández-Bello, J., Macedo-Ojeda, G., & Muñóz-Valle, J. F. (2021). Potential immunomodulatory effects of vitamin D in the prevention of severe coronavirus disease 2019: An ally for Latin America (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, *47*(4). https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.4865

Veldurthy, V., Wei, R., Öz, L., Dhawan, P., Jeon, Y. H., & Christakos, S. (2016). Vitamin D, calcium homeostasis and aging. *Bone Research*, *4*(1), 16041. https://doi.org/10.1038/boneres.2016.41

Voltan, G., Cannito, M., Ferrarese, M., Ceccato, F., & Camozzi, V. (2023). Vitamin D: An Overview of Gene Regulation, Ranging from Metabolism to Genomic Effects. *Genes*, *14*(9), 1691. https://doi.org/10.3390/genes14091691

Walters, M. R. (1992). Newly Identified Actions of the Vitamin D Endocrine System*. *Endocrine Reviews*, *13*(4), 719–764. https://doi.org/10.1210/edrv-13-4-719

Whitfield, G. K., Hsieh, J., Jurutka, P. W., Selznick, S., Haussler, C. A., MacDonald, P. N., & Haussler, M. R. (1995). Genomic Actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Journal of Nutrition*, *125*. https://doi.org/10.1093/jn/125.suppl_6.1690s

Wimalawansa, S. J. (2024). Physiology of Vitamin D—Focusing on Disease Prevention. *Nutrients*, *16*(11), 1666. https://doi.org/10.3390/nu16111666

Xu, Y., Baylink, D. J., Chen, C.-S., Reeves, M. E., Xiao, J., Lacy, C., Lau, E. H. Y., & Cao, H. (2020). The importance of vitamin d metabolism as a potential prophylactic, immunoregulatory and neuroprotective treatment for COVID-19. *Journal of Translational Medicine*, *18*(1), 322. https://doi.org/10.1186/s12967-020-02488-5

Yang, S., Li, A., Wang, J., Liu, J., Han, Y., Zhang, W., Li, Y. C., & Zhang, H. (2018). Vitamin D Receptor: A Novel Therapeutic Target for Kidney Diseases. *Current Medicinal Chemistry*, *25*(27), 3256–3271. https://doi.org/10.2174/0929867325666180214122352

Yavuz, D., Mete, T., Yavuz, R., & Altunoğlu, A. (2014). D Vitamini, Kalsiyum & Mineral Metabolizması, D Vitaminin İskelet Dışı Etkileri ve Kronik Böbrek Yetmezliğinde Nütrisyonel D Vitamini Kullanımı. *Ankara Medical Journal*, *14*(4). https://doi.org/10.17098/amj.19812

Young, K., Beggs, M. R., Grimbly, C., & Alexander, R. T. (2022). Regulation of 1 and 24 hydroxylation of vitamin D metabolites in the proximal tubule. *Experimental Biology and Medicine*, *247*(13), 1103–1111. https://doi.org/10.1177/15353702221091982

Zastulka, A., Clichici, S., Culic, B., Pop, N.-L., Olteanu, C.-D., Delcea, C., Sabău, L. I., & Mocan, T. (2024). Calcium and vitamin D: roles, interactions and nutritional programming for bone development. *Balneo and PRM Research Journal*, *15*, 747. https://doi.org/10.12680/balneo.2024.747

Zhang, S., Miller, D. D., & Li, W. (2021). Non-Musculoskeletal Benefits of Vitamin D beyond the Musculoskeletal

System. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(4), 2128. https://doi.org/10.3390/ijms22042128

Zhou, C. (2006). Steroid and xenobiotic receptor and vitamin D receptor crosstalk mediates CYP24 expression and drug-induced osteomalacia. *Journal of Clinical Investigation*, *116*(6), 1703–1712. https://doi.org/10.1172/jci27793

PLAZMA HÜCRE HASTALIKLARINDAKİ MONOKLONAL İMMÜNGLOBULİNLERİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE LABORATUVAR TESTLERİ

Nazife DOĞAN[1]

1. GİRİŞ

Kemik iliğindeki plazma hücrelerinin (bir veya daha fazla klonunun çoğaldığı monoklonal gamopatiler (MKG) disproteinemiler veya paraproteinemiler olarak da adlandırılmaktadır. MKG'de ortak bulgu homojen immünglobulin (Ig) üretimi ile oluşan monoklonal protein (M proteini) veya paraproteindir. MKG'ler Plazma Hücre Hastalıkları (Plasma Cell Disorders, PCD) olarak adlandırılan heterojen bir hastalık grubudur. PHH'deki M proteinini saptamada en sık serum protein elektroforezi (serum protein electrophoresis, SPE) ve/veya immünfiksasyon elektroforezi (Immunofixation electrophoresis, IFE) kullanılmaktadır (Tietsche De Moraes Hungria, Allen, Kampanis, & Soares, 2016).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Plazma Hücre Hastalıkları (PHH)

2.2.1. Plazma Hücresi Gelişimi

Öncül lenfoid kök hücre kemik iliğinde pluripotent hematopoetik kök hücreden gelişmektedir. Bu süreçte Pro-B

[1] "Tıbbi Biyokimya Uzmanı, Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi Tıbbi Biyokimya, ORCID: 0009-0008-6737-0416.

hücresindeki Ig ağır zincir gen düzenlenmesi ile Pre-B hücresine dönüşmektedir. Pre-B hücrelerindeki IgM ağır zinciri oluşumunu hafif zincir gen düzenlenmesi takip etmektedir. Hafif zincir olarak öncelikle Kappa'yı (κ) oluşturulmaktadır. Hafif zincirde ki Lambda (λ) yapımı ise κ'yı oluşturamayan pre-B hücrelerindeolmaktadır. Bu düzenlemeler ile hücre membranında ilk kez IgM saptanan hücre immatür B hücresi oalarak adlandırılmaktadır. İmmatür B hücresinde IgM'den sonra IgD'nin de sentezlenmesiyle matür naiv B hücrelerigözlenmektedir. Kemik iliğinden ayrılan antijenle karşılaşmamış IgM ve IgD pozitif matür naiv B hücreleri periferik kandaki B lenfositlerini (%60-70) oluşturmaktadır. Bu hücreler lenfoid dokuda antijenlerle aktive olarak bellek B hücrelerine dönüşmektedir. Bellek B hücreleri lenf nodunda ya plazma hücrelerini ya da bellek B hücrelerini oluşturmaktadır. B hücreleri plazma hücrelerine dönüşerek Ig yapısındaki antikorlar ile humoral immüniteyi oluşturmaktadır (Ahmed, 2024; Joshi, Wader, & Kanethkar, 2020).

2.2.2. Tanımı

PHH'ları grubundaki hastalıklar önemi belirsiz monoklonal gammopati [monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS)], plazma hücreli myelom, plazma hücreli myelom varyantları (plazma hücreli lösemi, sekretuar olmayan myelom, sessiz-sinsi myelom (smoldering multiple myeloma (SMM), plazmositom (Kemik dışı plazmasitom, kemiğin soliter plazmasitomu), Ig depo hastalıkları (sistemik hafif ve ağır zincir depo hastalıkları, amiloidozis (Primer, Sekonder), Paraneoplastik sendromlarlarla ilişki plazma hücreli neoplaziler, telanjiektaziler,polinöropati, organomegali, endokrinopati, MKG ve deri değişiklikleri (Polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal gammopathy, and skin changes; POEMS syndrome)] olarak adlandırılmaktadır. PHH için klinik, morfolojik, immünolojik ve radyolojik olarak

tanımlanan diagnostik tanı kriterleri kullanılmaktadır (Swerdlow vd., 2016).

3. PLAZMA HÜCRE HASTALIKLARI (PHH)'INDA MONOKLONAL İMMÜNGLOBULİN DEĞERLENDİRMESİ

PHH'lardaki MKB'ların analizindeki tekniklerin başlıcaları SPE, M proteinlerinin karakterize edilmesi (immüntipleme), serum viskozitesi, serbest hafif zincir (free light chain, FLC) ölçümü ve idrar FLC (urine free light chain) olarak adlandırılmaktadır. M proteinin karakterize edildiği immüntiplemeler ise IFE, immünelektroforez (immunoelectrophoresis,IEF)immunsubraksiyon(immunosubtrction, IS) ve immunseleksiyon elektroforezi (immunoselection electrophoresis, ISE) teknikleridir (Sarto vd., 2021). PHH'larında elektroforez tabanlı laboratuvar testleri yaygın olarak kullanılsa da az miktardaki MKB'ların nicel analizinde duyarlılıklar düşüktür. Bu kısıtlılığın önüne geçebilmek için otomatik immünolojik testlerle serum serbest FLC (sFLC) nicel analizi kombine edilebilmektedir. Kütle spektrometrisi (mass spectrometry, MS)'i Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon - Uçuş Süresi Kütle Spektrometrisi (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-of-Flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF MS), sıvı kromatografisi-elektrosprey iyonizasyon (liquid chromatography-electrospray ionization, LC-ESI), kuadrupol uçuş zamanlı kuadrupol uçuş zamanlı (quadrupole time-of-flight, Q-TOF) MS, LC-ESI Orbitrap MS gibi farklı cihazlarda uygulanmaktadır. Literatürde PHH'larında MS tabanlı bu cihazların MKB analizinde duyarlılıkları ve doğrulukları yüksek olarak raporlanmaktadır Bu tekniklerin kullanıldığı cihazlar maliyetine, kullanım kolaylığına

ve sensitivitelerine göre tercih edilebilmektedir (Girard vd., 2020; Kumar vd., 2016).

3.1. Plazma Hücre Hastalıkları (PHH)'ında Serum Protein Elektroforezi (SPE)

SPE, primer olarak PHH'larındaki MKG'lerin tespitinde tarama testi olarak tercih edilse de birçok klinik durumda kullanım endikasyonu vardır (Keren, 1999). Düşük Rezolüsyonlu Elektroforezin kurulumu kolay, maliyet düşük ve sarf malzeme ihtiyacı az olsa da elektroforetik desende beta ve gama bölgelerinin sınırlarında gözlenen küçük monoklonal pikleri (M piki) gözden kaçırma riski yüksektir. Yüksek rezolüsyonlu elektroforez ise özellikle beta bölgesine gizlenmiş monoklonal IgA veya hafif zincirlerin tespitinde yüksel bir tanısal duyarlılığa sahip iken işlem sırasında kullanılan yüksek voltaja bağlı jelde aşırı ısınma ve/veya bantlarda bükülme (distortion) riski bulunmaktadır. Otomatize jel elektroforez sistemlerinde (CE) kullanıcı kaynaklı manuel hataları ve standardizasyon sorunlarını azaltabilmektedir (Keren, 1999; Triebel, Markl-Hahn, Harris, & Bertsch, 2022).

SPE ile elektroforetik desende saptanan pikler elektroforetik desende saptandığı bölgelere göre [albümin, alfa-1(α_1), alfa-2 (α_2), beta (β_1) globülin, beta (β2) globülin, gama (γ) globülin] adlandırılmaktadır. Sağlıklı bireylerde Gama (γ) globülin bölgesindeki pik poliklonal geniş ve yayvan bir kubbe iken PHH'larında uzun, keskin ve dar olarak raporlanmaktadır (Regeniter & Siede, 2018; Triebel vd., 2022). PHH'larında CE ile elektroforetik desende en sık gama fraksiyonunda bozulma ve/veya pik gözlenmektedir. PHH'nın β_1 ve β_2 bölgesindeki pikte saptanan M proteini normal serum proteinleri ile üst üste binerek (co-migration) asimetrik bir omuzlaşmaya yol açabilmektedir. Elektroforetik desende bu distorsiyon görüldüğünde, refleks test

olarak IFE önerilmektedir (Keren, 1999; Regeniter & Siede, 2018; Triebel vd., 2022).

3.2. Plazma Hücre Hastalıkları (PHH)'ında Monoklonal Proteinlerin Karakterize Edilmesi (immüntipleme)

3.2.1. Plazma Hücre Hastalıkları (PHH)'ında Monoklonal Proteinlerin Karakterize Edilmesinde (immüntipleme) İmmünelektroforez (IEF)

IEF tekniğinde protein karışımları jelde elektriksel yüklerine göre (elektroforez) ayrıştırıldıktan sonra çökelme arklarına (precipitin arcs) spesifik antiserum ile lateral difüzyon ile uygulanmaktadır. Bu yöntemin serumu/antiserumu yüksek miktarda kullanması ve analizin uzun sürmesi nedeniyle mikro-metod (Micro-immunoelectrophoresis) geliştirilmiştir. Mikro-metodlu IEF'inde manuel aşamalarda oluşabilen reaksiyon çizgilerinin dikkatli yorumlanması gerekmektedir. Tek boyutlu klasik IEF'den sırasıyla iki boyutlu kantitatif ve roket elektroforeze geçişden sonra günümüzde yaygın kullanılan IFE'i geliştirilmiştir (Csako, 2019). IEF'in saptanan MKB'ların ağır zincirlerini (IgG, IgA, IgM) ve hafif zincirlerini (κ, λ) ayırt edebilmesi ve tümöral mi iyi huylu/reaktif mi (poliklonal geniş bant) olduğunu gösteribilmesi avantajları bulunmaktadır. Ayrıca IEF MS gibi yeni nesil teknolojilere göre daha düşük maliyete sahiptir. Ancak IEF'in saptadığı MKB'ın kantitasyonu için FLC ve/veya SPE ile birlikte kullanılması gerekmektedir. Bu teknikte çok yüksek M proteini prozon (antikor fazlalığı) etkisine yol açacağından zayıf çökelme bantları veya ile yalancı negatiflik oluşabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı IEF tekniğindeki MKB'ların yorumlanması subjektif (laboratuvar uzmanının deneyimi) olarak değerlendirilmektedir (Csako, 2019; Uddin, Rahman, Sultana, & Saha, 2018).

MM'da IEF ve IFE birlikte değerlendirildiğinde tek bir Ig [en sık IgG (κ) ve/veya IgA(λ)] ve buna eşlik eden net bir dar bant olan FLC M piki saptanmaktadır. MGUS'da IEF ile çok silik bantlar gözlenmektedir. MGUS'daki bu silik bantların reaktif veya enfeksiyöz süreçlere bağlı oluşan poliklonal (yaygın ve dumanlı) artışlardan ayırt edilebilmesi gerekmektedir. Bu ayrımın yapılabilmesinin gelecekte MGUS'dan aktif miyeloma ilerleme riskini saptayabilmedeki rolü büyüktür. PHH'larında IEF ve IFE birlikte yorumlanmasında jeldeki MKB'ın IgA veya IgM tipinde saptanmasının gelecekte aktif miyeloma dönüşme (progresyon) riskini yüksek göstermektedir. Bu riski sınıflandırırken jelin yoğunluğu ve FLC tipindeki anormalikler birlikte değerlendirilmektedir. AL Amiloidoz'da (Amiloidoz Hafif zincir, Amyloidosis Light chain, AL) organlarda biriken FLC'lerden (özellikle λ tipi) oluşan MKB çok küçük olduğundan IEF ile saptanamayabilmektrdir. IEF ve IFE birlikte değerlendirildiğinde AL Amiloidozda gama bölgesinde çok ince mikro-bant (özellikle FLC kuyusunda) saptanabildiğinden daha hassas olan immünbaskılama tekniği de önerilmektedir. POEMS Sendromunda ise çok az MKB **(**genellikle λ hafif zinciri tipi) olduğundan değerlendirilmesinde IEF ve IFE birlikte serumda artmış Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (Vascular Endothelial Growth Factor**,** VEGF) kullanılmaktadır (Csako, 2019; Fend, Dogan, & Cook, 2023; Uddin vd., 2018).

3.2.2. Plazma Hücre Hastalıkları (PHH)'ında Monoklonal Proteinlerin Karakterize Edilmesinde (immüntipleme) İmmünfiksasyon Elektroforezi (IFE)

IFE'inde antijenler elektrik yüküne göre jel üzerinde ayrıştırıldıktan sonra özgül antiserumlarla pasif difüzyon yoluyla çökertilmesi yapılmaktadır. Agaroz jeldeki elektroforezden sonra antiserumlar jele paralel açılan oluklara eklenmektedir. Bu teknikte elektroforez ile önce serum veya idrar numunesi jelde

yürütülerek protein albümin, alfa, beta ve gama fraksiyonlarına ayrılmaktadır. Sonra anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti-κve anti-λ antiserumları doğrudan jele uygulanmaktadır. Matris içine antijen-antikor kompleksleri sabitlenirken bağlanmayan proteinler yıkama ile uzaklaştırılmaktadır. Bu yöntemde son derece keskin, yüksek çözünürlüklü saptanan MKB tanıda altın standart olarak kabul edilmektedir (Fend vd., 2023; Pello vd., 2025; Uddin vd., 2018)

MM'da IFE ile sıklıkla IgG veya daha nadir olarak IgA yapısında bir ağır zincir ile tek bir hafif zincir (κ veya λ) saptanmaktadır. IFE ile tek bir hafif zincir (κ veya λ) net izlenirken standart ağır zincir (G, A, M) hatları oluşmuyorsa test IgD ve IgE antiserumları ile tekrarlanmaktadır. Bu tekrarlama ile nadir görülen IgD/IgE miyelom vakaları saptanabilmektedir. MGUS'da yoğunluğu ve miktarı düşük serum M-proteini (<3 g/dL) raporlanabilmektedir. MGUS'daki saptanan bu bandın izotipi de prognostik risk skorlanmasında kullanılmaktadır. MGUS vakalarından IgA veya IgM-tiplerinin MM'a dönüşme riski IgG-tipinden daha yüksektir. MGUS'da İFE pozitifliği klonaliteyi kanıtlasa da MM' dönüşme riski klinik bulgularla ve kantitatif değerlendirme ile birlikte yapılmaktadır (Fadili vd., 2025; Fend vd., 2023). AL Amiloidozunda SPE ile M piki sıklıkla görülmez iken IFE ile hafif zincir (λ baskın) saptanabilmektedir. AL Amiloidozunda rutin SPE ile M proteini tek başına saptanamadığından hem serum hem de 24 saatlik idrarda IFE ile birlikte sFLC analizi birlikte yorumlanmaktadır (Fadili vd., 2025; Kukreti vd., 2026; Rajkumar, 2024). Renal Öneme Sahip Monoklonal Gammopati (Monoklonal Gammopati of Renal Significance, MGRS)'de ise SPE'inde net bir bant oluşturmayan ancak amiloid dışı böbrek dokusunda çok silik MKB'lar gözlenmektedir. İFE ile organ hasarını saptayabilmek için konsantre idrar (100 kat veya daha fazla konsantre edilmiş)

olarak kullanılmaktadır (Ronco, Alyanakian, Mougenot, & Aucouturier, 2001; Willrich, Murray, & Kyle, 2018).

3.2.3. Plazma Hücre Hastalıkları (PHH)'ında Monoklonal Proteinlerin Karakterize Edilmesinde (immüntipleme) İmünsubtraksiyon (Immunosubtraction - IS)

Bu teknik CE ile birlikte immünotiplemeye önemli katkılar sağlamaktadır. Yeni nesil immün-yakalama/immünsubtraksiyon (Immuno-capture/Immuno-subtraction, ICIS)'te ise özgüllüğü arttırmak ve matriks girişimlerini azaltmak için geliştirilmiştir**.** Literatürde AL Amiloidoz hastalarında ICIS tekniğinin daha hassas olduğu raporlanmaktadır (Miyazaki & Suzuki, 2016; Paquette & Banks, 2001).

3.2.4. Plazma Hücre Hastalıkları (PHH)'ında Monoklonal Proteinlerin Karakterize Edilmesinde (immüntipleme) İmmünseleksiyon Elektroforezi (Immunoselection Electrophoresis - ISE)

ISE ile jelin başlangıç noktasındaki hafif zincir taşıyan tüm normal ve monoklonal Ig'ler eklenen antiserumlar (anti-κ ve anti- λ) ile bloke edilmektedir**.** Sonra geriye kalan sadece hafif zincir bağı olmayan kusurlu serbest monoklonal ağır zincirler jelin ileri bölgelere doğru göç etmektedir. İlk olarak Ağır Zincir Hastalıklarında (Heavy Chain Diseases, HCD) IEF ile saptanan poliklonal arka planı ayırt edebilmek için ISE geliştirilmeye başlandı. IgG, IgA veya IgM gammopatisi olan ancak hafif zincir eşleşmesi saptanamayan şüpheli olgularda ISE'inde antiserumlar (anti-Kve anti- λ) kullanılmaktadır. Çok nadir gözlenen ve diğer elektroforez teknikleri ile değerlendirilemeyen Franklin Hastalığında (Gama HCD) ise ISE referans bir teknikdir. Literatürde gerçek serbest ağır zincir varyantı olan (HCD)

hastalarını MM'dan ayırt etmede modern ISE kombinasyonları (katı faz immün-yakalama) kullanılmaktadır (Longhi, Çeka, Olivieri, Moretti, & Sabbatinelli, 2026; Rajkumar, 2024; Willrich vd., 2018).

3.3. Plazma Hücre Hastalıkları (PHH)'ında Serum Viskozitesi

M proteininin kanın akışkanlığını etkilemektedir. Önce sıvıların viskozitesinin ölçülmesinde kullanılsa da MM'da kanın yoğunluğunu saptamada kullanıldı. Geliştirilen Ostwald Kapiller Viskometresi ile serum viskozitesindeki artış saptandı ve bu artış Waldenström Makroglobulinemisi (WM)'inde tanı testi olarak kullanıldı. Paraprotein konsantrasyonuyla viskozite artışı arasında logaritmik bir ilişki gösterildi. PHH'larında serum viskozitesindeki artış testi terapötik plazmaferez (plazma değişimi) standartlarının belirlenmesinde rol aldı. Geçmişten günümüze viskometreler [cam kapiller, rotasyonel, düşen küre (Höppler) ve mikroçip tabanlı Çip Üzeri Viskozimetre-Reometre (Viscometer-Rheometer-on-a-Chip, VROC)] geliştirildi. Literatürde VROC Viskometrelerinin hastane otomasyon sistem (HBS)'lerine entegrasyonu ile yüksek yoğunluklu serumları çekerken tıkanma hatası vermesinin engellenebileceği gösterildi (Onyechi, Ohemeng-Dapaah, Kang, Lacasse, & Kunwor, 2024; Stone & Pascual, 2010).

3.4. Plazma Hücre Hastalıkları (PHH)'ında serbest hafif zincir (FLC) ölçümü

Ig sentezinde hafif zincirler (κ/λ) ağır zincirlerden daha fazla üretildiğinde bu fazlalık FLC olarak kana salınmaktadır. 1845'te MM hastasının idrarında BJP'inin keşfedilse de erken tanı için yetersizdi. Sonrasında koyunlardan elde edilen poliklonal antikorların sadece "serbest" durumdaki epitoplarını tanıyan sFLC ölçüm tekniği geliştirildi. Bu teknik HBS'ye (nefelometrik ve türbidimetrik) entegre edildi. Bu entegrasyon

ile MM tanısında serumda tutulan ve tutulmayan FLC'nin oranı" miyelom hücre yükü biyobelirteci" olarak kullanıldı. PHH'larındaki klonal hafif zincirlerin moleküler kütle haritalandırılmasında sFLC ile MS (Mass Spectrometry / MASS-FIX**)** teknikleri birlikte kullanılmaktadır (A. Dispenzieri vd., 2009; Katzmann vd., 2002; Singh, Arinze, Manthei, Plapp, & Bollag, 2023).

3.5. Plazma Hücre Hastalıkları (PHH)'ında İdrar Serbest Hafif Zincir (uFLC / Urinary Free Light Chains) Ölçümleri

İdrar İmmünfiksasyon Elektroforezi (uIFE) ile idrarda BJP kantitasyonu sağlandı. uIFE'nde BJPinin yoğunluğu çok düşük olduğundan bazı laboratuvar standartları (idrarın kurutma yöntemleriyle konsantre edilmesi ve idrarın membran filtrasyonu) uygulanmaktadır. Ancak böbrek yetmezliği olan hastalarda poliklonal artışa bağlı sFLC'inde yalancı yükseklik gözlenebilmektedir. Geliştirilen antisera teknolojisi ile modifiye uIFE yöntemlerinde idrar jellerindeki FLC'lere spesifik antikorlar (anti-FLC antisera) uygulandı. Anti-FLC antisera kullanımı ile hafif zincir miyelomlu ve amiloidozlu hastalarının uFLC'inde monoklonal hafif zincir piki (λ tipi) daha fazla saptandı. uIFE'inde bazı kısıtlılklar (idrarın konsantere edilmesi, subjektif yorumlama, testin uzun sürmesi v.b) vardır. İdrar numunesindeki M proteini ileri tanı teknikleri olan Kütle Spektrometrisi-İmmünfiksasyon (Mass-Spectrometry Immunofixation, MASS-FIX) ile ölçülebilmektedir (Angela Dispenzieri vd., 2010; Singh vd., 2023).

3.6. Plazma Hücre Hastalıkları (PHH)'ında Kütle spektrometrisi tekniğinde (MS) ölçümü

M protein analizlerinde elektroforetik teknikler yaygın kulllanılsa da yeni teknolojiler de [kromatografi ve kromatografi ile birleştirilmiş MS (özellikle LC-MS)] kullanılmaktadır. MS

tabanlı yöntemlerin kullanımı ile bu analizlerde duyarlılık ve doğruluk hassasiyetleri arttırılmaktadır (Darie-Ion vd., 2022; Zajec vd., 2020). İlk kromotografik tekniklerden olan Katyon Değişim Kromatografisi (Cation Exchange Chromatography, CEX) ile numunedeki yük heterojenitesi saptanırken Boyut Eleme Kromatografisi (Size Exclusion Chromatography, SEC) ile protein agregatları analiz edilebilmektedir. Teknik olarak MS ile entegre olabilen ve çözünürlük gücü yüksek olan Ters Faz Sıvı Kromatografisi (Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography, RPLC)'de yaygın kullanılmaktadır. Geliştirilien bu tekniklerden Atmosferik basınçta elektrospery iyonizasyon (Atmospheric Pressure Electrospray Ionization, ESI) ile intact protein analizi yapılırken Ultra Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi - Ardışık MS (Ultra High Performance Liquid Chromatography- Tandem Mass Spectrometry, UHPLC-MS/MS) ile peptit haritalar oluşturulmaktadır. Bu entegrasyon ile proteinlerin post-translasyonel modifikasyonları (PTM) ve amino asit dizilim doğrulanması yapılabilmektedir. M proteinine spesifik aminoasit dizilimini yüksek oranda saptayabilen bozulmamış kütle (Intact Mass - Top-down/Middle-down) ve Klonotipik Peptit" (Bottom-up) teknikleri de geliştirilmeye devam etmektedir (Alhazmi & Albratty, 2023; Beck vd., 2015; Lee, Yoo, Yang, & Song, 2026). Protein yük varyantlarının ve izoforlarının ayrılmasında İyon Değişim Kromatografisinin (Ion Exchange Chromatography, IEX) CE teknikleri birlikte kullanılabilmektedir. Bu tekniklere Nükleer Manyetik Rezonans (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) ve MS'nin eklenmesiyle MKB'ların yapısal parmak izi çıkarılabilmektedir. Minimal Rezidüel Hastalık (Minimal Residual Disease, MRD)'ta tedavi sonrası kalabilen çok az miktardaki M proteinini saptayabilme de kromatografik tabanlı kütle yöntemleri kullanılmaktadır (Alhazmi & Albratty, 2023; Beck vd., 2015; Lee vd., 2026).

Literatürde proteindeki hafif zincirlerin ayrıştırılmasında Sağlam M-proteini Taraması-Hafif Zincir (Intact M-protein Screening-Light Chain, iMS-LC) ve MASS-FIX teknikleri önerilmektedir. MKB'a spesifik peptitlerin analizinde Sıvı Kromatografisi- Çoklu Reaksiyon İzleme- Kütle Spektrometresi (Liquid Chromatography- Multiple Reaction Monitoring- Mass Spectrometry, LC-MRM-MS) ve Sıvı Kromatografisi – Ardışık (Tandem) Kütle Spektrometresi (Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, LC-MS/MS) teknikleri de birlikte kullanılabilmektedir. Geliştirilen bu MS teknikleri ile PHH'larının tanısında kemik iliği biyopsisine gerek kalmadan MKB analizleri yapılabilmektdir**.** MM'un erken tanısında MALDI-TOF ve MS teknikleri kullanılabilmektedir. MGUS'un aktif MM'a dönüşme riskini belirleyen intakt hafif zincir glikozilasyon (N-glikozilasyon) tayininde MALDI-TOF ve MS tekniği birlikte kullanılmaktadır (Angela Dispenzieri vd., 2010; Miller vd., 2022). Elektroforetik yöntemler ile organlarda saptanan AL amiloidozun hatasız tiplendirilebilmesi ve alt tiplerinin başarıyla teşhis edilebilmesi için Lazer Mikrodiseksiyon- Sıvı Kromatografisi- Ardışık Kütle Spektrometresi (Laser Microdissection – Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry, LMD-LC-MS/MS) tekniği kullanılabilmektedir.İmmünohistokimya(Immunohistochemistry , IHC) yöntemlerinin yetersiz veya şüpheli MKB analizlerinde LMD-LC-MS/MS tekniğinin doku kökeninden bağımsız olarak AL amiloidozu hatasız tiplendirmektedir (Alhazmi & Albratty, 2023; Lee vd., 2026; Miller vd., 2022).

4. SONUÇ

PHH'larının erken tanısında, tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde ve takibinde labaratuvar testleri diğer bulgularla birlikte kritik rol oynamaktadır. MKB'ın

kantitasyonunda, immünotiplendirilmesinde ve risk sınıflandırılmasında birçok laboratuvar testi kullanılmaktadır. MS tekniğindeki teknolojik kombinasyonlarla yüksek duyarlılıkta MKB analizi, AL amiloidozunun hatasız tiplendirilmesi, MRD'nin takibi ve nadir görülen hafif zincir miyelomlarının erken tanısı yapılabilmektedir.

KAYNAKLAR

Ahmed, R. (2024, Ekim 10). *Immunoglobulins: Structure, Function, and Therapeutic Applications in Immune Response*. Medicine and Pharmacology. https://doi.org/10.20944/preprints202410.0760.v1

Alhazmi, H. A., & Albratty, M. (2023). Analytical Techniques for the Characterization and Quantification of Monoclonal Antibodies. *Pharmaceuticals*, *16*(2), 291. https://doi.org/10.3390/ph16020291

Beck, A., Debaene, F., Diemer, H., Wagner-Rousset, E., Colas, O., Van Dorsselaer, A., & Cianférani, S. (2015). Cutting-edge mass spectrometry characterization of originator, biosimilar and biobetter antibodies. *Journal of Mass Spectrometry: JMS*, *50*(2), 285-297. https://doi.org/10.1002/jms.3554

Csako, G. (2019). Immunoelectrophoresis: A Method with Many Faces. *Methods in Molecular Biology*, *1855*, 249-268. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8793-1_21

Darie-Ion, L., Whitham, D., Jayathirtha, M., Rai, Y., Neagu, A.-N., Darie, C. C., & Petre, B. A. (2022). Applications of MALDI-MS/MS-Based Proteomics in Biomedical Research. *Molecules*, *27*(19), 6196. https://doi.org/10.3390/molecules27196196

Dispenzieri, A., Kyle, R., Merlini, G., Miguel, J. S., Ludwig, H., Hajek, R., … International Myeloma Working Group. (2009). International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia*, *23*(2), 215-224. https://doi.org/10.1038/leu.2008.307

Dispenzieri, Angela, Katzmann, J. A., Kyle, R. A., Larson, D. R., Melton, L. J., Colby, C. L., … Rajkumar, S. V. (2010).

Prevalence and risk of progression of light-chain monoclonal gammopathy of undetermined significance: A retrospective population-based cohort study. *The Lancet*, *375*(9727), 1721-1728. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60482-5

Fadili, H., Ouazzani, H., Rhaleb, I., Bendi, I., Snoussi, M., Zrara, A., … El Bakkouri, J. (2025). Relevance of Prescribing Serum Immunofixation Electrophoresis in the Diagnosis of Monoclonal Gammopathies. *Cureus*, *17*(6), e86339. https://doi.org/10.7759/cureus.86339

Fend, F., Dogan, A., & Cook, J. R. (2023). Plasma cell neoplasms and related entities—Evolution in diagnosis and classification. *Virchows Archiv*, *482*(1), 163-177. https://doi.org/10.1007/s00428-022-03431-3

Girard, L.-P., Soekojo, C. Y., Ooi, M., Poon, L. M., Chng, W.-J., & De Mel, S. (2020). Immunoglobulin M Paraproteinaemias. *Cancers*, *12*(6), 1688. https://doi.org/10.3390/cancers12061688

Joshi, S., Wader, J., & Kanethkar, S. (2020). Bone Marrow Aspiration and Bone Marrow Biopsy in Hematological Disorders. *Biomedical and Pharmacology Journal*, *13*(02), 799-804. https://doi.org/10.13005/bpj/1944

Katzmann, J. A., Clark, R. J., Abraham, R. S., Bryant, S., Lymp, J. F., Bradwell, A. R., & Kyle, R. A. (2002). Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: Relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clinical Chemistry*, *48*(9), 1437-1444.

Keren, D. F. (1999). Procedures for the Evaluation of Monoclonal Immunoglobulins. *Archives of Pathology & Laboratory*

Medicine, *123*(2), 126-132. https://doi.org/10.5858/1999-123-0126-PFTEOM

Kukreti, V., Seftel, M., Aguirre, M. A., Azzam, M., Boedicker, D. D., Bumma, N., … Mustafa, R. A. (2026). American Society of Hematology 2026 guidelines on diagnosis of light chain amyloidosis. *Blood Advances*, *10*(14), 5113-5152. https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2025017073

Kumar, S., Paiva, B., Anderson, K. C., Durie, B., Landgren, O., Moreau, P., … Avet-Loiseau, H. (2016). International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *The Lancet Oncology*, *17*(8), e328-e346. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(16)30206-6

Lee, J., Yoo, S., Yang, S., & Song, S. H. (2026). Paradigm Shift in Monoclonal Protein Detection: From Electrophoresis-based to Mass Spectrometry–based Methods. *Annals of Laboratory Medicine*, *46*(1), 3-15. https://doi.org/10.3343/alm.2025.0133

Longhi, E., Çeka, A., Olivieri, F., Moretti, M., & Sabbatinelli, J. (2026). Novel Laboratory Approaches in Heavy Chain Disease With Discordant Immunoglobulin Quantitation: A Case Report and Literature Review. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, *40*(9), e70202. https://doi.org/10.1002/jcla.70202

Miller, I. D., Kohlhagen, M. C., Ladwig, P. M., Dasari, S., Kumar, S., Dispenzieri, A., … Murray, D. L. (2022). Characterizing M-protein light chain glycosylation via mass spectrometry. *Clinical Biochemistry*, *109-110*, 11-16. https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2022.09.004

Miyazaki, K., & Suzuki, K. (2016). Capillary electrophoresis/immunosubtraction as a better alternative to immunofixation for detecting and immunotyping serum monoclonal proteins in patients with immunoglobulin light chain (AL) amyloidosis. *Amyloid: The International Journal of Experimental and Clinical Investigation: The Official Journal of the International Society of Amyloidosis*, *23*(4), 221-224. https://doi.org/10.1080/13506129.2016.1232647

Onyechi, A., Ohemeng-Dapaah, J., Kang, A., Lacasse, A., & Kunwor, R. (2024). Viscous Vengeance: A Case Report of Hyperviscosity Syndrome in IgA Lambda Multiple Myeloma. *Journal of Community Hospital Internal Medicine Perspectives*, *14*(5), 92-95. https://doi.org/10.55729/2000-9666.1397

Paquette, D. M., & Banks, P. R. (2001). Detection of specific antibodies using immunosubtraction and capillary electrophoresis instrumentation. *Electrophoresis*, *22*(12), 2391-2397. https://doi.org/10.1002/1522-2683(200107)22:12%3C2391::AID-ELPS2391%3E3.0.CO;2-B

Pello, R., Iglesias, M. Á., Vidal, R., Mateos, R., Outón, M., Agulló, C., … Cedena, M. T. (2025). Mass Spectrometry Profiling of Therapeutic Antibodies in Multiple Myeloma: M/z Features and Concordance with Immunofixation Electrophoresis. *Biomedicines*, *13*(12), 2933. https://doi.org/10.3390/biomedicines13122933

Rajkumar, S. V. (2024). Multiple myeloma: 2024 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *American Journal of Hematology*, *99*(9), 1802-1824. https://doi.org/10.1002/ajh.27422

Regeniter, A., & Siede, W. H. (2018). Peaks and tails: Evaluation of irregularities in capillary serum protein electrophoresis. *Clinical Biochemistry*, *51*, 48-55. https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.09.017

Ronco, P. M., Alyanakian, M.-A., Mougenot, B., & Aucouturier, P. (2001). Light Chain Deposition Disease: A Model of Glomerulosclerosis Defined at the Molecular Level. *Journal of the American Society of Nephrology*, *12*(7), 1558-1565. https://doi.org/10.1681/ASN.V1271558

Sarto, C., Intra, J., Fania, C., Brivio, R., Brambilla, P., & Leoni, V. (2021). Monoclonal free light chain detection and quantification: Performances and limits of available laboratory assays. *Clinical Biochemistry*, *95*, 28-33. https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2021.05.006

Singh, G., Arinze, N., Manthei, D. M., Plapp, F. V., & Bollag, R. J. (2023). Urine Protein Immunofixation Electrophoresis: Free Light Chain Urine Immunofixation Electrophoresis Is More Sensitive than Conventional Assays for Detecting Monoclonal Light Chains and Could Serve as a Marker of Minimal Residual Disease. *Laboratory Medicine*, *54*(5), 527-533. https://doi.org/10.1093/labmed/lmac155

Stone, M. J., & Pascual, V. (2010). Pathophysiology of Waldenstrom's macroglobulinemia. *Haematologica*, *95*(3), 359-364. https://doi.org/10.3324/haematol.2009.017251

Swerdlow, S. H., Campo, E., Pileri, S. A., Harris, N. L., Stein, H., Siebert, R., … Jaffe, E. S. (2016). The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*, *127*(20), 2375-2390. https://doi.org/10.1182/blood-2016-01-643569

Tietsche De Moraes Hungria, V., Allen, S., Kampanis, P., & Soares, E. M. (2016). Serum free light chain assays not total light chain assays are the standard of care to assess Monoclonal Gammopathies. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, *38*(1), 37-43. https://doi.org/10.1016/j.bjhh.2015.11.003

Triebel, J., Markl-Hahn, H., Harris, D., & Bertsch, T. (2022). High Resolution Continuous Elution Electrophoresis for the Evaluation of Low Abundance Serum Proteins. *Clinical Laboratory*, *68*(04/2022). https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2021.210827

Uddin, M. M., Rahman, M. M., Sultana, S. A., & Saha, D. (2018). Superiority of Serum Immunofixation Electrophoresis over Serum Protein Electrophoresis in the Diagnosis of Multiple Myeloma. *Journal of Bangladesh College of Physicians and Surgeons*, *36*(3), 95-100. https://doi.org/10.3329/jbcps.v36i3.37031

Willrich, M. A. V., Murray, D. L., & Kyle, R. A. (2018). Laboratory testing for monoclonal gammopathies: Focus on monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *Clinical Biochemistry*, *51*, 38-47. https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.05.001

Zajec, M., Langerhorst, P., VanDuijn, M. M., Gloerich, J., Russcher, H., van Gool, A. J., … Jacobs, J. F. M. (2020). Mass Spectrometry for Identification, Monitoring, and Minimal Residual Disease Detection of M-Proteins. *Clinical Chemistry*, *66*(3), 421-433. https://doi.org/10.1093/clinchem/hvz041

OKSİDATİF HASAR VE ANTİOKSİDAN SAVUNMANIN BİYOBELİRTEÇLERİ: LABORATUVAR TIBBI PERSPEKTİFİ

Akile TUNCAL[1]

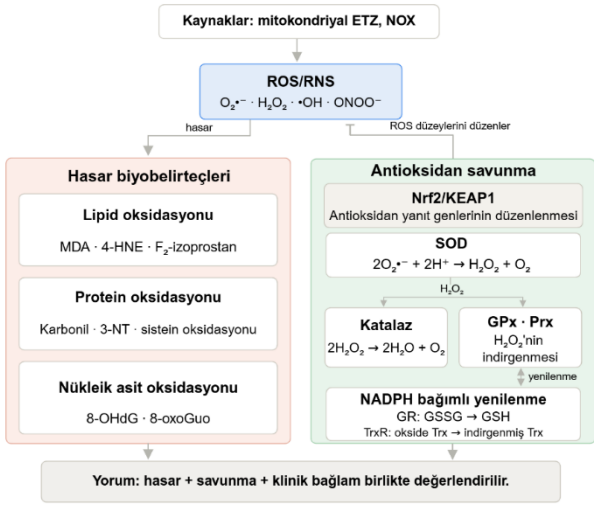
1. GİRİŞ

Aerobik yaşam, oksijenin mitokondriyal solunumda son elektron alıcısı olarak kullanılmasına dayanır ve bu süreçte kısmen indirgenmiş oksijen türleri de oluşur. Reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılan bu moleküller yalnızca hasar verici yan ürünler değildir. Özellikle hidrojen peroksit (H_2O_2), fizyolojik nanomolar düzeylerde belirli protein hedefleri aracılığıyla metabolik düzenleme ve stres yanıtlarında rol alan başlıca redoks sinyal molekülüdür (Sies & Jones, 2020). Oksidatif stres, oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması sonucunda redoks sinyallemesinin ve kontrolünün aksaması ve/veya moleküler hasar oluşması olarak tanımlanmaktadır (Sies, 2015).

Redoks dengesindeki bozulma, aterosklerozdan diyabetik komplikasyonlara, nörodejeneratif hastalıklardan kansere kadar çok sayıda patolojik süreçte rol oynar (Forman & Zhang, 2021; Jomova vd., 2023). Reaktif türlerin çoğu kısa ömürlüdür ve biyolojik örneklerde doğrudan ve güvenilir ölçülmeleri güçtür. Pratikte bu türlerin yerine, oluşturdukları oksidasyon ürünleri ve antioksidan savunma bileşenleri ölçülür (Murphy vd., 2022).

[1] Yrd. Doç. Dr., Kıbrıs Sağlık ve Toplum Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Güzelyurt, KKTC, ORCID: 0000-0002-7442-1874

Her belirteç redoks ağının farklı bir bölümünü ve kendine özgü analitik sınırlılıkları yansıtır (Frijhoff vd., 2015). Bu bölümde oksidatif hasar göstergeleri ile antioksidan savunma belirteçleri biyokimyasal açıdan birlikte ele alınacak, her birinin neyi yansıttığı, nasıl ölçüldüğü ve hangi koşullarda yanıltıcı olabileceği laboratuvar tıbbı perspektifinden tartışılacaktır (Şekil 1).



Şekil 1. Oksidatif hasar ile antioksidan savunmanın biyokimyasal ilişkisi. ETZ: elektron transport zinciri, NOX: NADPH oksidaz, ROS: reaktif oksijen türleri, RNS: reaktif azot türleri, MDA: malondialdehit, 4-HNE: 4-hidroksinonenal, 3-NT: 3-nitrotirozin, 8-OHdG: 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin, 8-oxoGuo: 8-okso-7,8-dihidroguanozin, SOD: süperoksit dismutaz, GPx: glutatyon peroksidaz, Prx: peroksiredoksin, GSH/GSSG: indirgenmiş/okside glutatyon, GR: glutatyon redüktaz, Trx: tiyoredoksin, TrxR: tiyoredoksin redüktaz, Nrf2: nükleer faktör eritroid 2 ilişkili faktör 2, KEAP1: Kelch benzeri ECH ilişkili protein 1.

Kaynak: Sies ve Jones (2020), Frijhoff vd. (2015), Jomova vd. (2024), Lu ve Holmgren (2014), Cuadrado vd. (2019) ve Broedbaek vd. (2011) temel alınarak yazar tarafından oluşturulmuştur. Created in BioRender. TUNCAL, A. (2026) https://BioRender.com/llkh6hg

2. REAKTİF OKSİJEN VE AZOT TÜRLERİNİN BİYOKİMYASAL KAYNAKLARI

2.1. Mitokondriyal Elektron Transport Zinciri

Mitokondri, NADPH oksidazlarla birlikte hücrede ROS'un başlıca endojen kaynakları arasındadır (Sies & Jones, 2020; Jomova vd., 2024). Elektron transport zinciri (ETZ) boyunca ilerleyen elektronların küçük bir kısmı, özellikle kompleks I ve kompleks III'ten sızarak moleküler oksijeni tek elektronla indirger ve süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet -}$) oluşturur (Jomova vd., 2024). ETZ gen ekspresyonu patolojik dokularda da değişebilir. Örneğin, uterin leiomyomda nükleer kodlanan ETZ genlerinin ekspresyonunun arttığı bulunmuştur (Tuncal vd., 2014).

2.2. NADPH Oksidazlar ve Diğer Hücresel Kaynaklar

NADPH oksidaz (NOX) ailesi, temel biyolojik işlevi ROS üretmek olan başlıca enzim ailesidir. NOX1, NOX2, NOX3, NOX4, NOX5, DUOX1 ve DUOX2 olmak üzere yedi üyeden oluşan bu aile, NADPH'den aldığı elektronları oksijene aktararak $O_2^{\bullet -}$ ya da doğrudan H_2O_2 üretir (Vermot vd., 2021). Ksantin oksidaz ve eşleşmesi bozulmuş endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) da süperoksit üretebilir (Jomova vd., 2024).

2.3. Başlıca Reaktif Oksijen ve Azot Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri

Süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet -}$), süperoksit dismutazın katalizlediği dismutasyon tepkimesiyle önemli bir redoks sinyal molekülü olan H_2O_2'ye dönüştürülür (Sies & Jones, 2020; Jomova vd., 2024). Hidroksil radikali (•OH), çoklu doymamış yağ asitleriyle tepkimeye girerek lipid peroksidasyonunu başlatabilen türlerden biridir (Frijhoff vd., 2015). Nitrik oksit (•NO) ise $O_2^{\bullet -}$ ile son derece hızlı tepkimeye girerek protein oksidasyonu ve

nitrasyonuna yol açabilen peroksinitriti ($ONOO^-$) oluşturur (Radi, 2018).

3. OKSİDATİF HASARIN BİYOKİMYASAL BİYOBELİRTEÇLERİ

Bir oksidatif hasar biyobelirtecinin güvenilirliği, örnekteki kararlılığına, örnek alımı ve işlenmesi sırasında ex vivo yapay oluşumunun önlenmesine ve özgül bir yöntemle ölçülebilmesine bağlıdır. Belirtecin hangi oksidatif süreçten kaynaklandığı da sonuçların yorumlanmasında önemlidir. Ancak in vivo saptanan tirozin nitrasyonu gibi değişikliklerin oluşum mekanizmasını kesin olarak belirlemek her zaman mümkün değildir (Frijhoff vd., 2015).

3.1. Lipid Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu, hidroksil radikali gibi reaktif türlerin çoklu doymamış yağ asitlerindeki bisallilik hidrojen atomlarıyla tepkimesiyle başlar (Frijhoff vd., 2015). Oluşan lipid radikalleri moleküler oksijenle tepkimeye girerek lipid peroksil radikallerini oluşturur ve zincir reaksiyonunu sürdürür. Bu sürecin ürünleri olan malondialdehit (MDA), 4-hidroksinonenal (4-HNE) ve F_2-izoprostanlar, lipid peroksidasyonunun en sık ölçülen biyobelirteçleridir. Ancak bu ürünlerin oluşum yollarındaki farklılıklar ile preanalitik ve analitik sorunlar, sonuçların yorumlanmasını güçleştirir (Tsikas, 2017).

MDA, tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) olarak adlandırılan bileşik grubunun prototipidir ve bu nedenle TBARS ile MDA eşanlamlı değildir (Tsikas, 2017). Ayrıca testin yüksek sıcaklık koşulları örnekte yapay MDA oluşumuna yol açabilir ve ölçülen MDA'nın %98'e varan kısmı bu şekilde oluşabilir (Frijhoff vd., 2015). 4-HNE ise proteinlerdeki sistein, histidin ve lizin kalıntılarıyla başta Michael katılması olmak

üzere kovalent tepkimelere girer. Konsantrasyona bağlı olarak sitotoksik etkilerinin yanı sıra Kelch benzeri ECH ilişkili protein 1 (KEAP1) ile oluşturduğu addüktlar aracılığıyla nükleer faktör eritroid 2 ilişkili faktör 2 (Nrf2) yolağını etkinleştirerek uyumsal yanıtı da düzenleyebilir (Milkovic vd., 2023).

F_2-izoprostanlar, in vivo oksidatif stresin izlenmesinde çoğunlukla en güvenilir belirteçler olarak kabul edilir. Ancak immünoassay sonuçları, GC-MS gibi kütle spektrometrisine dayalı yöntemlerle her zaman uyum göstermeyebilir (Frijhoff vd., 2015). Kimyasal ve enzimatik oluşumun ayırt edilmesine yardımcı olmak amacıyla 8-iso-$PGF_2\alpha$/$PGF_2\alpha$ oranının kullanılması da önerilmiştir (van 't Erve vd., 2015).

3.2. Protein Oksidasyonu

Protein karbonillerinin ölçümü, protein oksidasyonunun en yaygın kullanılan göstergesidir. Karbonil gruplarının görece erken oluşması ve karbonillenmiş proteinlerin görece kararlı olması bu belirteci öne çıkarır (Dalle-Donne vd., 2003). Ölçümde çoğunlukla 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) ile türevlendirme yapılır ve oluşan ürünler spektrofotometrik olarak ya da antikor temelli yöntemlerle (ELISA ve Western blot) saptanır (Dalle-Donne vd., 2003).

3-Nitrotirozin, nitroksidatif stresin yaygın kullanılan bir biyobelirtecidir. Tirozin nitrasyonu, tirozinin peroksinitritten türeyen radikaller ya da miyeloperoksidaz gibi hem peroksidazları tarafından tirozil radikaline oksitlenmesi ve bu radikalin azot dioksitle ($\bullet NO_2$) tepkimesi sonucunda gerçekleşir (Radi, 2013). Bu nedenle 3-nitrotirozin, peroksinitrit aracılı hasara özgül bir biyobelirteç değildir (Frijhoff vd., 2015).

Sistein kalıntılarının oksidasyonu sülfenilasyon, disülfit bağları ve S-glutatyonilasyon gibi geri dönüşümlü değişikliklere yol açabilirken, sülfonik asit oluşumu geri dönüşümsüzdür (Frijhoff vd., 2015). Dolayısıyla tiyol düzeyleri proteinlerin

redoks durumuna ilişkin bilgi sağlayabilir (Bölüm 6.3). Ancak bazı sistein oksidasyon ürünlerinin kararsız olması ve örnek işlenmesi sırasında tiyol-disülfit değişimlerinin gerçekleşebilmesi, ölçümlerin yorumlanmasını güçleştirir. Tiyol redoks durumunun korunmasının amaçlandığı analizlerde, daha ileri redoks değişikliklerini önlemek için örneklerin hızla uygun bir alkilleyici ajanla işlenmesi gerekir (Frijhoff vd., 2015).

3.3. Nükleik Asit Oksidasyonu

Guanin, nükleik asit bazları arasında düşük oksidasyon potansiyeli nedeniyle oksidatif değişikliklere özellikle duyarlıdır. DNA'da oluşan 8-okso-7,8-dihidroguanin (8-oxoG), replikasyon sırasında adeninle yanlış eşleşerek G:C→T:A transversiyonlarına yol açabilir. Bu bazın deoksinükleozit formu olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG ya da 8-oxodG), oksidatif DNA hasarının yaygın kullanılan biyobelirteçlerinden biridir. İdrarda ölçülebilmesi, onu oksidatif DNA hasarının invaziv olmayan bir göstergesi hâline getirir (Frijhoff vd., 2015).

Bir meta-analizde, kromatografik yöntemlerle ölçülen idrar 8-OHdG için sağlıklı ve normal kilolu erişkinlerde havuzlanmış geometrik ortalama 3,9 ng/mg kreatinin olarak bildirilmiştir (Graille vd., 2020). Bununla birlikte, doku ve hücre DNA'sında örnek hazırlama sırasında oluşabilen yapay guanin oksidasyonu, laboratuvarlar arası farklılıkların önemli nedenlerinden biridir (ESCODD, 2002).

RNA oksidasyon ürünü 8-okso-7,8-dihidroguanozin (8-oxoGuo) da klinik açıdan incelenmektedir. Yeni tanı almış tip 2 diyabetli bireylerde idrar 8-oxoGuo düzeyleri uzun dönem mortaliteyle ilişkili bulunmuş, 8-oxodG için ise düzeltilmiş analizlerde böyle bir ilişki saptanmamıştır (Broedbaek vd., 2011).

4. ENZİMATİK ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx), enzimatik antioksidan savunmanın temel bileşenleridir (Jomova vd., 2024).

4.1. Nrf2/KEAP1 Ekseni: Antioksidan Yanıtın Transkripsiyonel Düzenlenmesi

Birçok antioksidan enzimin ekspresyonu Nrf2 transkripsiyon faktörü tarafından düzenlenir. Bazal koşullarda KEAP1, Nrf2'nin ubikitinlenmesini ve proteazomal yıkımını sağlar. Elektrofil ve oksidanların KEAP1'in reaktif sisteinlerini modifiye etmesi, Nrf2'nin çekirdekte birikmesine yol açar. Nrf2, küçük Maf proteinleriyle birlikte antioksidan yanıt elementlerine (ARE) bağlanarak glutamat-sistein ligaz, NQO1, hem oksijenaz-1 ve tiyoredoksin redüktaz gibi antioksidan savunmayla ilişkili genlerin ekspresyonunu artırır (Yamamoto vd., 2018; Cuadrado vd., 2019). Bu nedenle antioksidan enzim aktivitesinde saptanan bir artış, oksidan yüke karşı gelişen bir uyum yanıtını yansıtabilir ve tek başına korunmuş bir redoks durumuna işaret etmez (Cuadrado vd., 2019).

4.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutazlar, $O_2^{\bullet -}$'nin H_2O_2 ve O_2'ye dismutasyonunu katalizler:

$$2\,O_2^{\bullet -} + 2\,H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

Memelilerde sitozolik Cu/Zn-SOD (SOD1), mitokondriyal Mn-SOD (SOD2) ve hücre dışı Cu/Zn-SOD (SOD3) olmak üzere üç izoform bulunur (Jomova vd., 2024). Klinik örneklerde SOD aktivitesi yaygın olarak ksantin/ksantin oksidaz sistemiyle üretilen süperoksitin bir indikatörü indirgemesinin inhibisyonu üzerinden dolaylı olarak ölçülür. Bu yöntemler tek başına SOD izoformlarını ayırt etmez.

4.3. Katalaz (CAT)

Katalaz, her alt biriminde bir hem grubu bulunan, NADPH bağlayan ve başlıca peroksizomlarda yer alan tetramerik bir enzimdir:

$$2\,H_2O_2 \xrightarrow{CAT} 2\,H_2O + O_2$$

Reaksiyon iki basamakta gerçekleşir. İlk H_2O_2 molekülü enzimi bileşik I olarak adlandırılan yüksek değerlikli bir demir ara ürününe okside eder, ikinci H_2O_2 molekülü ise bileşik I'i dinlenim durumuna indirger. Yüksek H_2O_2 düzeylerinde NADPH, enzimin inaktif bileşik II formuna dönüşmesini önler (Glorieux & Buc Calderon, 2017).

Katalaz aktivitesi klasik olarak H_2O_2'nin 240 nm'deki absorbansının azalışı izlenerek ölçülür (Aebi, 1984). Bu yöntem UV bölgesinde absorbans veren örnek bileşenlerinden etkilendiğinden bulanık ya da hemolizli örneklerde sınırlıdır. Kalan H_2O_2'nin molibdatla oluşturduğu sarı kompleksin ölçümüne dayanan yöntem ise görünür bölgede çalışır ve serum katalaz aktivitesinin ölçümü için geliştirilmiştir (Góth, 1991). Yüksek substrat düzeylerinde enzim aktivitesinin değişebilmesi, sonuçları başlangıç H_2O_2 konsantrasyonuna ve reaksiyon süresine duyarlı kılar ve laboratuvarlar arası karşılaştırmayı güçleştirir. Son yıllarda H_2O_2'nin elektrokimyasal olarak izlenmesine dayanan sensör temelli yaklaşımlar da ilgi görmektedir (Bölüm 6.1).

4.4. Glutatyon Peroksidazlar (GPx)

Glutatyon peroksidazlar, H_2O_2 ve organik hidroperoksitlerin indirgenmesine katkıda bulunan enzimlerdir. Birçok GPx izoformu bu reaksiyonlarda indirgenmiş glutatyonu (GSH) elektron vericisi olarak kullanır. Oluşan okside glutatyon (GSSG), glutatyon redüktaz tarafından NADPH kullanılarak yeniden GSH'ye dönüştürülür (Frijhoff vd., 2015):

$$H_2O_2 + 2\,GSH \xrightarrow{GPx} GSSG + 2\,H_2O$$

İnsanda GPx1, GPx2, GPx3, GPx4 ve GPx6 izoformlarının aktif bölgelerinde selenosistein bulunur (Jomova vd., 2024). GPx aktivitesi yaygın olarak glutatyon redüktazla eşleşmiş sistemde, 340 nm'de NADPH tüketiminin izlenmesiyle ölçülür. Ölçüm sonuçları kullanılan peroksit substratına ve selenyum durumuna bağlı olarak değişebilir.

4.5. Peroksiredoksin ve Tiyoredoksin Sistemleri

Peroksiredoksinler (Prx), peroksidatik sistein kalıntıları aracılığıyla H_2O_2 ile yüksek hızda tepkimeye giren tiyol peroksidazlardır (Rhee, 2016). Birçok peroksiredoksinin oksitlenmiş formu tiyoredoksin (Trx) tarafından indirgenir. Oksitlenmiş tiyoredoksin ise NADPH kullanan tiyoredoksin redüktaz (TrxR) ile yeniden indirgenir (Lu & Holmgren, 2014).

5. NONENZİMATİK ANTİOKSİDAN SİSTEMLER VE REDOKS ÇİFTLERİ

5.1. Glutatyon Sistemi ve GSH/GSSG Oranı

Glutatyon (γ-glutamil-sisteinil-glisin), hücre içinde milimolar düzeylerde bulunan başlıca düşük molekül ağırlıklı tiyoldir. Glutatyon-glutaredoksin sistemi, tiyoredoksin sistemiyle birlikte hücresel redoks ortamının düzenlenmesine katkıda bulunur ve bu sistemler arasında belirli koşullarda elektron aktarımı gerçekleşebilir (Lu & Holmgren, 2014). GSH ayrıca proteinlerin S-glutatyonilasyonunda görev alır (Frijhoff vd., 2015). GSH/GSSG çiftinin redoks potansiyeli (E_h), Nernst eşitliğiyle hesaplanabilir:

$$E_h = E^{\circ\prime} + \frac{RT}{2F}\ln\left(\frac{[GSSG]}{[GSH]^2}\right)$$

Eşitlikte GSH konsantrasyonu kare olarak yer aldığından E_h yalnızca GSH/GSSG oranına değil, mutlak GSH konsantrasyonuna da bağlıdır. Bu durumda yalnızca oranın bildirilmesi yanıltıcı olabilir (Schafer & Buettner, 2001). Laboratuvar açısından en önemli sınırlılıklardan biri preanalitik oksidasyondur. Asitle deproteinizasyon sırasında örnekteki GSH'nin %5 ile %15'i yapay olarak GSSG'ye okside olabilir ve bu durum GSSG düzeyinin olduğundan yüksek ölçülmesine yol açabilir. Bu sorunu azaltmak amacıyla GSH'nin deproteinizasyon öncesinde N-etilmaleimid (NEM) ile bloke edilmesi önerilmektedir (Giustarini vd., 2013).

4.1. NADPH/$NADP^+$ Çifti ve Tiyoredoksin Sistemiyle Bağlantı

Bölüm 4.4 ve 4.5'te belirtildiği gibi NADPH, glutatyon ve tiyoredoksin sistemlerinin indirgeme kapasitesinin sürdürülmesinde temel elektron vericisidir (Lu & Holmgren, 2014). NADPH, pentoz fosfat yolunun oksidatif kolunun yanı sıra $NADP^+$ bağımlı izositrat dehidrogenaz ve malik enzim aracılığıyla da üretilebilir.

5.3. Düşük Molekül Ağırlıklı Antioksidanlar

Ürik asit, insan plazmasındaki önemli antioksidanlardan biridir. Bununla birlikte hücre içinde pro-oksidan etkiler gösterebilir ve yüksek ürik asit düzeyleri hipertansiyon, diyabet, metabolik sendrom ve kardiyovasküler riskle ilişkilendirilmiştir (Gherghina vd., 2022). Antioksidan özellik gösteren birçok küçük molekül, preklinik çalışmalarda umut verici sonuçlar vermesine karşın klinik araştırmalarda beklenen yararı tutarlı biçimde sağlayamamıştır (Forman & Zhang, 2021; Halliwell, 2024).

6. OKSİDATİF STRES BİYOBELİRTEÇLERİNİN ÖLÇÜMÜ VE YORUMLANMASI

Oksidatif stres literatüründeki yöntemsel heterojenlik, biyobelirteçlerin anlamına ilişkin genel sonuçlar çıkarılmasını güçleştirmektedir (Frijhoff vd., 2015). Güncel bir uzlaşı metni, ölçülen kimyasal türün ve kullanılan yöntemin açıkça belirtilmesini ve sonuçların farklı ölçüm ilkelerine dayanan tekniklerle doğrulanmasını önermektedir (Murphy vd., 2022).

6.1. Analitik Yöntemler

Spektrofotometrik ve florometrik yöntemler (TBARS, DNPH ile karbonil tayini, Ellman reaktifi ile tiyol tayini, enzim aktiviteleri) genellikle düşük maliyetli ve hızlıdır, bazıları otomasyona uygundur. Bununla birlikte kullanılan yönteme bağlı olarak analitik özgüllük sınırlı olabilir. Hücresel oksidan yanıtın değerlendirilmesinde yaygın kullanılan diklorodihidrofloresein (DCFH), farklı oksidan sistemler tarafından oksitlenebilir, ancak H_2O_2 ile doğrudan tepkimeye girmez. Bu tür problarla elde edilen sonuçlar ancak hücresel redoks durumundaki değişikliğin ön değerlendirmesi olarak yorumlanmalıdır (Murphy vd., 2022). **Kromatografik ve kütle spektrometrik yöntemler** (HPLC, GC-MS, LC-MS/MS), uygun biçimde valide edildiklerinde yüksek analitik duyarlılık ve özgüllük sağlayabilir. Özellikle idrar 8-OHdG ölçümünde altın standart olarak kabul edilen kromatografik yöntemler, pahalı cihaz ve deneyimli personel gerektirdiğinden rutin kullanımda sınırlı kalmaktadır (Graille vd., 2020). **İmmünokimyasal yöntemler** daha düşük maliyetli ve yaygın olarak kullanılmakla birlikte, idrar 8-OHdG ölçümünde kromatografik yöntemlere göre daha düşük analitik duyarlılık ve özgüllük gösterebilir (Graille vd., 2020).

Elektrokimyasal ve biyosensör temelli yaklaşımlar giderek önem kazanmaktadır. "Yapay peroksidaz" olarak da adlandırılan Prusya mavisi, H_2O_2 için düşük potansiyelde yüksek

duyarlılık ve seçicilik sağlayan bir dönüştürücüdür ve ekran baskılı elektrotlarda da kullanılabilir. Bu dönüştürücü özellikle H_2O_2 üreten oksidazlara dayalı biyosensörlerde öne çıkmaktadır (Karyakin, 2001). H_2O_2'nin elektrokimyasal olarak izlenmesi, katalaz gibi H_2O_2 tüketen enzimlerin aktivitesinin substrat azalması üzerinden dolaylı olarak değerlendirilmesine de uyarlanabilir. Ancak bu sistemlerin klinik kullanıma geçebilmesi için gerçek biyolojik matrikslerde analitik performanslarının doğrulanması ve bağımsız, valide edilmiş yöntemlerle karşılaştırılması gerekmektedir.

4.1. Bütünleşik Göstergeler: TAS, TOS ve Oksidatif Stres İndeksi

Toplam antioksidan durum (TAS) ölçümünde örnekteki antioksidanlar, kararlı $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonunu konsantrasyonlarına ve antioksidan kapasitelerine bağlı olarak indirger ve oluşan renk azalması ölçülür (Erel, 2004). Toplam oksidan durum (TOS) ölçümünde ise örnekteki oksidanlar asidik ortamda ferröz iyonu ferrik iyona oksitler ve oluşan ferrik iyon ksilenol oranjla ölçülür (Erel, 2005). TOS/TAS oranı, iki parametrenin birimleri uyumlu hâle getirildikten sonra oksidatif stres indeksi (OSI) olarak raporlanır. Her iki test de otomatik analizörlere uyarlanmıştır (Erel, 2004, 2005). Ancak ürik asit plazmanın başlıca antioksidanlarından biri olduğundan TAS değerini belirgin biçimde etkileyebilir (Bölüm 5.3). Ayrıca test $ABTS^{\bullet+}$ indirgenmesine dayandığından SOD, katalaz ve GPx gibi enzimlerin aktivitelerini doğrudan değerlendirmez. TAS, kapasiteye katkıda bulunan bileşiklerin niteliği hakkında da bilgi vermez ve düşük bir değer ancak klinik bağlamda anlamlı biçimde yorumlanabilir (Silvestrini vd., 2023). TOS da tek bir toplam değer verdiğinden hangi oksidanın arttığını göstermez. Bu göstergeler grup karşılaştırmalarında yararlı olabilir, ancak mekanizmaya ilişkin çıkarım için tek başına yeterli değildir.

6.3. Tiyol/Disülfit Homeostazı

Tiyol/disülfit homeostazı testi, dinamik disülfit bağlarının sodyum borohidrür ile serbest tiyollere indirgenmesi, kalan indirgeyicinin formaldehitle etkisizleştirilmesi ve doğal ile toplam tiyollerin Ellman reaktifiyle ölçülmesi esasına dayanır. Disülfit düzeyi, toplam ve doğal tiyol arasındaki farkın yarısı olarak hesaplanır. Disülfit/doğal tiyol gibi oranlar, tiyol/disülfit dengesinin değerlendirilmesine olanak tanır (Erel & Neşelioğlu, 2014). Plazmadaki en bol tiyol, albüminin tek serbest tiyol grubudur. Bu nedenle sonuçlar albümin düzeyiyle birlikte yorumlanmalıdır (Turell vd., 2013).

6.4. Preanalitik Değişkenler ve Standardizasyon

Örnek alımı, işlenmesi ve saklanması sırasında oluşabilecek yapay oksidasyon, oksidatif stres ölçümlerinde önemli bir hata kaynağıdır. Lipid peroksidasyonu çalışmalarında, ölçülecek belirtece ve yönteme göre biyolojik sıvılara bütillenmiş hidroksitolüen (BHT) gibi antioksidanların eklenmesi ve örneklerin analiz öncesinde hızla dondurulması önerilmektedir (Murphy vd., 2022). Özellikle GSH/GSSG redoks durumunun değerlendirilmesinde, örnek hazırlarken yapay oksidasyonu sınırlamak için GSH'nin alkilleyici ajanlarla hızla bloke edilmesi önerilir (Bölüm 5.1). Sonuçların yorumunda biyolojik karıştırıcı etkenler de dikkate alınmalıdır. Örneğin, GSH düzeyindeki bir değişiklik oksidatif stresten değil, beslenmeye bağlı ya da metabolik bir dengesizlikten kaynaklanabilir. Yaş ve bazı ilaçlar da belirteç düzeylerini etkileyebilir. Vücut kitle indeksi ve sigara kullanımı gibi etkenler de analizlerde düzeltme gerektiren karıştırıcılar arasındadır (Frijhoff vd., 2015).

Preanalitik değişkenlerin yanı sıra ölçüm yöntemlerinin standardizasyonu da önemli bir sorundur. Örneğin, bazı 3-nitrotirozin ELISA yöntemlerinde, nitrasyon derecesi yeterince tanımlanmamış nitrolanmış sığır serum albümini standartlarının

kullanılması, sonuçların karşılaştırılabilirliğini sınırlar (Frijhoff vd., 2015). Benzer bir sorun, farklı tekniklerle ölçülen idrar 8-OHdG verileri için de geçerlidir (Graille vd., 2020). Bu sorunlar, yöntemin, örnek işleme ve saklama koşullarının ayrıntılı ve şeffaf biçimde raporlanmasını gerekli kılar (Poljšak vd., 2025). Başlıca biyobelirteçler, ölçüm yaklaşımları ve temel sınırlılıkları Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1. Oksidatif Hasar ve Antioksidan Savunmanın Başlıca Biyobelirteçleri

Biyobelirteç	Biyokimyasal anlamı	Başlıca ölçüm yaklaşımı	Temel sınırlılık
Lipid oksidasyonu			
MDA	Lipid peroksidasyonu son ürünü	TBARS, HPLC, GC/LC-MS	TBARS özgül değil, ex vivo oluşum
4-HNE (protein addüktları)	Reaktif aldehit, sinyal molekülü	ELISA, IHK, LC-MS/MS	Addükt çeşitliliği, kantitasyon güç
F_2-izoprostanlar	Radikal aracılı araşidonik asit oksidasyonu	GC-MS, LC-MS/MS	Maliyet ve erişim, immünoassay uyumu zayıf
Protein oksidasyonu			
Protein karbonilleri	Proteinlerin oksidatif modifikasyonu	DNPH-spektrofotometri, ELISA, Western blot	Yönteme bağlı değişkenlik, preanalitik etkiler
3-Nitrotirozin	Nitroksidatif stres göstergesi	ELISA, LC-MS/MS	Peroksinitrite özgül değil, ELISA standardizasyonu
Tiyol/disülfit dengesi	Geri dönüşümlü oksidasyon ve tamponlama	Otomatize Ellman temelli test	Albümin düzeyine bağımlılık
Nükleik asit oksidasyonu			
8-OHdG (8-oxodG)	Oksidatif DNA hasarı	LC-MS/MS, HPLC-ECD, ELISA	Yönteme bağlı farklılık, yapay oksidasyon
8-oxoGuo	Oksidatif RNA hasarı	LC-MS/MS	Sınırlı erişim ve referans veri
Enzimatik savunma			
SOD	$O_2^{\bullet-}$ dismutasyonu	Dolaylı inhibisyon yöntemleri	İzoform ayrımı yok, yönteme bağlı değişkenlik
Katalaz	H_2O_2 uzaklaştırılması	240 nm (Aebi), molibdat yöntemi, elektrokimyasal	Substrat bağımlılığı, hemoliz
GPx	Peroksit indirgenmesi	GR eşleşmeli NADPH tüketimi (340 nm)	Selenyum, GSH ve substrat bağımlılığı
Redoks durumu			
GSH/GSSG	Hücresel redoks dengesi	HPLC, LC-MS/MS, enzimatik geri dönüşüm	Preanalitik oksidasyon, hızlı GSH stabilizasyonu gereksinimi
Bütünleşik gösterge			
TAS, TOS, OSI	Toplam antioksidan/oksidan kapasite	Otomatize kolorimetrik testler	TAS'ta ürik asit etkisi ve enzimlerin yansımaması, TOS'ta oksidan türü ayrımı olmaması

Not: IHK: immünohistokimya, ECD: elektrokimyasal dedektör, GR: glutatyon redüktaz. Tablo, Bölüm 3 ile 6 arasında atıf yapılan kaynaklar temel alınarak yazar tarafından hazırlanmıştır.

7. KLİNİK VE ARAŞTIRMA BAĞLAMINDA BİYOBELİRTEÇLERİN BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ

Aynı biyobelirteç farklı klinik bağlamlarda farklı anlam taşıyabilir. **Kardiyometabolik hastalıklar** arasında yer alan diyabette idrar 8-iso-$PGF_2\alpha$ atılımının arttığı, kan glukozuyla doğrusal ilişki gösterdiği ve metabolik kontrolün iyileşmesiyle azaldığı gösterilmiştir (Davì vd., 1999). Ürik asit TAS değerini belirgin biçimde etkileyebildiğinden, bu hastalarda yüksek bir TAS korunmuş bir savunmadan çok yüksek ürik asit düzeyini yansıtıyor olabilir (Bölüm 5.3 ve 6.2). **Kanserde** tümör hücreleri artmış ROS üretimine karşı Nrf2 aktivasyonu, GSH sentezi ve NADPH üretimini artırarak yeni bir redoks dengesi kurabilir. Bazı tümörlerde KEAP1/NFE2L2 yolundaki değişiklikler, Nrf2 aracılı antioksidan yanıtın artması ve belirli tedavilere direnç gelişmesiyle ilişkilendirilmiştir (Cuadrado vd., 2019). **Nörodejeneratif hastalıklarda**, örneğin Alzheimer hastalığında protein karbonil düzeylerinin arttığı bildirilmiştir. Bununla birlikte oksidatif stresin hastalığın gelişimine katkısı ile hastalık sürecinin sonucunda ortaya çıkan oksidatif değişikliklerin birbirinden ayrılması güçtür (Jomova vd., 2023). Beyin omurilik sıvısında (BOS) ise F_2-izoprostan düzeyleri yaşla birlikte artmaktadır. Bu düzeyler, klinik olarak normal olduğu hâlde BOS Aβ42 ve tau düzeyleri Alzheimer hastalığıyla uyumlu bir profil gösteren bireylerde de daha yüksek bulunmuştur (Montine vd., 2011). Bu bulgu, santral süreçlerin değerlendirilmesinde örnek türü seçiminin önemini göstermektedir.

Bu örneklerin ortak noktası açıktır: **Tek bir oksidatif stres biyobelirteci bütün redoks durumunu temsil etmez.** Araştırma sorusuna uygun hasar ve savunma belirteçlerinin birlikte kullanılması daha kapsamlı bir değerlendirme sağlar. Mümkün olduğunda farklı makromolekül sınıflarını yansıtan göstergelerin (örneğin F_2-izoprostanlar, protein karbonilleri ve 8-

OHdG) bir arada incelenmesi de yararlıdır (Poljšak vd., 2025). Örnek türü çalışmanın amacına göre seçilmeli, sonuçlar karıştırıcı etkenlerle birlikte yorumlanmalı (Bölüm 6.4) ve kullanılan yöntem ile sınırlılıkları açıkça raporlanmalıdır (Murphy vd., 2022).

8. SONUÇ

Oksidatif stres, tek bir molekülün ya da enzimin düzeyiyle tanımlanabilecek bir durum değildir. Reaktif türlerin üretimi, uzaklaştırılması ve oluşan hasarın onarımı arasındaki dinamik dengenin bir sonucudur. Bu bölümde ele alınan belirteçlerin her biri bu dengenin farklı bir yönünü yansıtır. Belirteçlerin anlamlı bir klinik bilgiye dönüşmesi, doğru yöntem seçimine, preanalitik koşulların kontrolüne ve sonuçların klinik bağlam içinde birlikte yorumlanmasına bağlıdır.

Alanın ilerlemesi için biyobelirteç ölçümlerinde standardizasyonun güçlendirilmesi, uygun referans materyallerin geliştirilmesi ve kütle spektrometrisine dayalı çoklu belirteç panellerinin araştırılması önem taşımaktadır. Elektrokimyasal sensörler gibi düşük maliyetli platformlar da klinik doğrulamaları tamamlandığında oksidatif stres değerlendirmesinin rutin laboratuvar uygulamasına girmesine katkı sağlayabilir. Antioksidan tedavilerin başarısı ise antioksidanların hangi koşullarda ve hangi hastalarda etkili olduğunun daha iyi anlaşılmasına bağlıdır (Forman & Zhang, 2021; Halliwell, 2024). Redoks durumunu güvenilir biçimde değerlendirebilen biyobelirteç stratejilerinin geliştirilmesi de bu bilginin klinik uygulamaya aktarılmasını kolaylaştırabilir.

KAYNAKÇA

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, *105*, 121–126.

Broedbaek, K., Siersma, V., Henriksen, T., Weimann, A., Petersen, M., Andersen, J. T., ... Poulsen, H. E. (2011). Urinary markers of nucleic acid oxidation and long-term mortality of newly diagnosed type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, *34*(12), 2594–2596.

Cuadrado, A., Rojo, A. I., Wells, G., Hayes, J. D., Cousin, S. P., Rumsey, W. L., ... Dinkova-Kostova, A. T. (2019). Therapeutic targeting of the NRF2 and KEAP1 partnership in chronic diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*, *18*(4), 295–317.

Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A., & Colombo, R. (2003). Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta*, *329*(1–2), 23–38.

Davì, G., Ciabattoni, G., Consoli, A., Mezzetti, A., Falco, A., Santarone, S., ... Patrono, C. (1999). In vivo formation of 8-iso-prostaglandin F2α and platelet activation in diabetes mellitus: Effects of improved metabolic control and vitamin E supplementation. *Circulation*, *99*(2), 224–229.

Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, *37*(4), 277–285.

Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, *38*(12), 1103–1111.

Erel, O., & Neşelioğlu, S. (2014). A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clinical Biochemistry, 47*(18), 326–332.

European Standards Committee on Oxidative DNA Damage [ESCODD]. (2002). Comparative analysis of baseline 8-oxo-7,8-dihydroguanine in mammalian cell DNA, by different methods in different laboratories: An approach to consensus. *Carcinogenesis, 23*(12), 2129–2133.

Forman, H. J., & Zhang, H. (2021). Targeting oxidative stress in disease: Promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature Reviews Drug Discovery, 20*(9), 689–709.

Frijhoff, J., Winyard, P. G., Zarkovic, N., Davies, S. S., Stocker, R., Cheng, D., ... Ghezzi, P. (2015). Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress. *Antioxidants & Redox Signaling, 23*(14), 1144–1170.

Gherghina, M.-E., Peride, I., Tiglis, M., Neagu, T. P., Niculae, A., & Checherita, I. A. (2022). Uric acid and oxidative stress: Relationship with cardiovascular, metabolic, and renal impairment. *International Journal of Molecular Sciences, 23*(6), 3188.

Giustarini, D., Dalle-Donne, I., Milzani, A., Fanti, P., & Rossi, R. (2013). Analysis of GSH and GSSG after derivatization with N-ethylmaleimide. *Nature Protocols, 8*(9), 1660–1669.

Glorieux, C., & Buc Calderon, P. (2017). Catalase, a remarkable enzyme: Targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. *Biological Chemistry, 398*(10), 1095–1108.

Góth, L. (1991). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta, 196*(2–3), 143–151.

Graille, M., Wild, P., Sauvain, J. J., Hemmendinger, M., Guseva Canu, I., & Hopf, N. B. (2020). Urinary 8-OHdG as a biomarker for oxidative stress: A systematic literature review and meta-analysis. *International Journal of Molecular Sciences, 21*(11), 3743.

Halliwell, B. (2024). Understanding mechanisms of antioxidant action in health and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology, 25*(1), 13–33.

Jomova, K., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2024). Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: Antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. *Archives of Toxicology, 98*(5), 1323–1367.

Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: Chronic diseases and aging. *Archives of Toxicology, 97*(10), 2499–2574.

Karyakin, A. A. (2001). Prussian Blue and its analogues: Electrochemistry and analytical applications. *Electroanalysis, 13*(10), 813–819.

Lu, J., & Holmgren, A. (2014). The thioredoxin antioxidant system. *Free Radical Biology and Medicine, 66*, 75–87.

Milkovic, L., Zarkovic, N., Marusic, Z., Zarkovic, K., & Jaganjac, M. (2023). The 4-hydroxynonenal–protein adducts and their biological relevance: Are some proteins preferred targets? *Antioxidants, 12*(4), 856.

Montine, T. J., Peskind, E. R., Quinn, J. F., Wilson, A. M., Montine, K. S., & Galasko, D. (2011). Increased cerebrospinal fluid F2-isoprostanes are associated with

aging and latent Alzheimer's disease as identified by biomarkers. *NeuroMolecular Medicine, 13*(1), 37–43.

Murphy, M. P., Bayır, H., Belousov, V., Chang, C. J., Davies, K. J. A., Davies, M. J., ... Halliwell, B. (2022). Guidelines for measuring reactive oxygen species and oxidative damage in cells and in vivo. *Nature Metabolism, 4*(6), 651–662.

Poljšak, B., Jamnik, P., & Milisav, I. (2025). The importance of multifaceted approach for accurate and comprehensive evaluation of oxidative stress status in biological systems. *Antioxidants, 14*(9), 1083.

Radi, R. (2013). Protein tyrosine nitration: Biochemical mechanisms and structural basis of functional effects. *Accounts of Chemical Research, 46*(2), 550–559.

Radi, R. (2018). Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 115*(23), 5839–5848.

Rhee, S. G. (2016). Overview on peroxiredoxin. *Molecules and Cells, 39*(1), 1–5.

Schafer, F. Q., & Buettner, G. R. (2001). Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radical Biology and Medicine, 30*(11), 1191–1212.

Sies, H. (2015). Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox Biology, 4*, 180–183.

Sies, H., & Jones, D. P. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature Reviews Molecular Cell Biology, 21*(7), 363–383.

Silvestrini, A., Meucci, E., Ricerca, B. M., & Mancini, A. (2023). Total antioxidant capacity: Biochemical aspects and

clinical significance. *International Journal of Molecular Sciences, 24*(13), 10978.

Tsikas, D. (2017). Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical Biochemistry, 524*, 13–30.

Tuncal, A., Aydin, H. H., Askar, N., Ozkaya, A. B., Ergenoglu, A. M., Yeniel, A. O., ... Ak, H. (2014). Increased expression of electron transport chain genes in uterine leiomyoma. *Annals of Clinical & Laboratory Science, 44*(4), 466–468.

Turell, L., Radi, R., & Alvarez, B. (2013). The thiol pool in human plasma: The central contribution of albumin to redox processes. *Free Radical Biology and Medicine, 65*, 244–253.

van 't Erve, T. J., Lih, F. B., Kadiiska, M. B., Deterding, L. J., Eling, T. E., & Mason, R. P. (2015). Reinterpreting the best biomarker of oxidative stress: The 8-iso-PGF2α/PGF2α ratio distinguishes chemical from enzymatic lipid peroxidation. *Free Radical Biology and Medicine, 83*, 245–251.

Vermot, A., Petit-Härtlein, I., Smith, S. M. E., & Fieschi, F. (2021). NADPH oxidases (NOX): An overview from discovery, molecular mechanisms to physiology and pathology. *Antioxidants, 10*(6), 890.

Yamamoto, M., Kensler, T. W., & Motohashi, H. (2018). The KEAP1-NRF2 system: A thiol-based sensor-effector apparatus for maintaining redox homeostasis. *Physiological Reviews, 98*(3), 1169–1203.

CLINICAL BIOCHEMISTRY DATA AND ARTIFICIAL INTELLIGENCE

Tuğba Muhlise OKYAY[1]

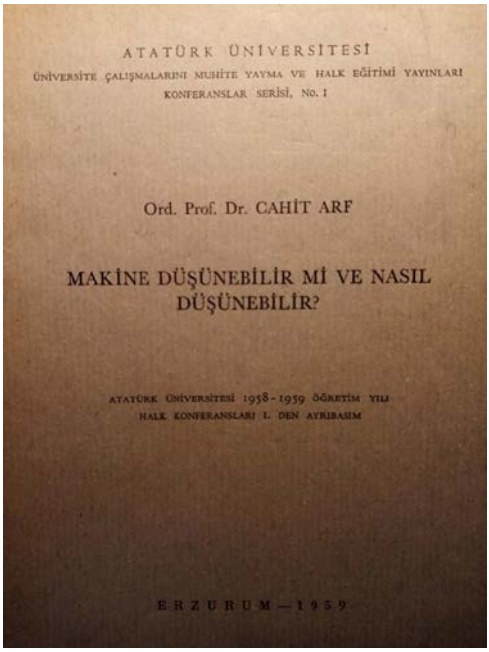
1. INTRODUCTION

Artificial intelligence can be defined as the endowment of computers or machine systems with the capacity to think through human intervention. This capacity for thought can be viewed as a method enabling computer systems to mimic human intelligence and perform tasks such as learning, problem-solving, decision-making, pattern recognition, forecasting, and analysis. One historical example in Turkey associated with the concepts of artificial intelligence and machine thought is the lecture titled "Can Machines Think, and How Can They Think?" delivered by mathematician Prof. Dr. Cahit Arf at Atatürk University in Erzurum in 1958 (Arf, 1959). This lecture serves as a notable example of early discourse regarding the relationship between machine and human thought. Subsequently, with the advent of the 2000s, advancements in computer technology and the rapid increase in digital data generation significantly accelerated the development of artificial intelligence applications. Over time, this progress—enabling the rapid processing of vast amounts of data, the uncovering of complex relationships, and the creation of predictive models—has expanded the use of artificial intelligence into the fields of science and healthcare (Topol, 2019).

The most prominent approaches within the realm of artificial intelligence are machine learning and deep learning.

[1] Assist. Prof. Dr., University of Health Sciences, Hamidiye International School, Department of Medical Biochemistry, ORCID: 0000-0001-8529-0331.

These two approaches operate within an interconnected hierarchy; while related, they possess distinct methodological characteristics (Rajkomar, Dean, & Kohane, 2019). At the intersection of artificial intelligence and clinical biochemistry, the primary objective is to derive meaningful clinical or molecular outputs from data. In this way, a bridge can be established between biochemical data and clinical or molecular decision-making.


ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ

ÜNİVERSİTE ÇALIŞMALARINI MUHİTE YAYMA VE HALK EĞİTİMİ YAYINLARI

KONFERANSLAR SERİSİ, No. 1

Ord. Prof. Dr. CAHİT ARF

MAKİNE DÜŞÜNEBİLİR Mİ VE NASIL DÜŞÜNEBİLİR?

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ 1958-1959 ÖĞRETİM YILI HALK KONFERANSLARI I. DEN AYRIBASIM

ERZURUM—1959

Figure 1. Cover page of the lecture series delivered by Prof. Dr. Cahit Arf on artificial intelligence. Reprinted from Arf (1959).

2. ARTIFICIAL INTELLIGENCE: MACHINE LEARNING

Machine learning is a set of methods that enables computer systems to perform predictions or classifications by leveraging patterns within existing data, without the need for explicit programming of every individual rule (Bishop, 2006;

Hastie, Tibshirani, & Friedman, 2009). Developing a machine learning application requires, first and foremost, sufficient quality raw (meta) data relevant to the problem at hand. Mathematical functions and equations are employed for modeling in machine learning. In the context of clinical biochemistry, this data may encompass various types, such as laboratory test results, patient characteristics, demographic variables, temporal information, and clinical diagnoses.

Machine learning models are developed using mathematical and statistical methods. Machine learning algorithms range from simpler models—such as linear regression and multiple linear regression—to more complex algorithms, including decision trees, support vector machines, random forests, and gradient boosting methods. Complex, data-specific models are created by deriving these models within the data space based on the data type.

Proper partitioning of the dataset is of great importance in a machine learning study. Generally, a portion of the data serves as the training dataset used during the model's learning process, while other portions are utilized for validation and testing purposes. While model parameters are learned during the training phase, validation data can be used for model selection and the determination of hyperparameters. The test dataset, meanwhile, allows for the evaluation of the model's performance on data it has not previously encountered. Thus, the model's ability to generalize to new data is examined, rather than it simply memorizing the training data.

Once the model has been executed, its performance is evaluated using metrics that vary according to the type of problem. For classification problems, metrics such as Accuracy, Precision, Recall, F1 score, and ROC-AUC can be employed. For regression problems, metrics such as Mean Absolute Error

(MAE), Mean Squared Error (MSE), Root Mean Squared Error (RMSE), and R^2 are used (Hastie et al., 2009).

In addition, cross-validation methods can assist in evaluating the model's performance across different data subsets and examining its generalizability.

In the context of clinical biochemistry, one significant application of machine learning is the integrated assessment of results obtained from laboratory tests. For instance, by analyzing lipid profiles, liver enzymes, renal function tests, or metabolic parameters in combination, it is possible to classify specific clinical conditions or perform risk assessments (Cabitza & Banfi, 2018).

3. ARTIFICIAL INTELLIGENCE: DEEP LEARNING

Deep learning is another subfield of artificial intelligence that refers to methods utilizing multi-layered artificial neural networks (Goodfellow, Bengio, & Courville, 2016). It is far more complex and intricate than traditional machine learning. Deep learning models evaluate data through numerous successive processing layers. Each layer can learn to represent different features of the data, and the collaborative operation of these layers enables the identification of complex patterns. Consequently, deep learning can offer significant advantages, particularly with high-dimensional and complex data structures. Furthermore, while researchers may need to define certain data features in traditional machine learning methods, deep learning models can learn a substantial portion of these features directly from the data, provided a sufficient volume of data is available.

There are numerous studies regarding disease- and patient-based modeling using deep learning. Deep learning

applications have been developed across various data types in the healthcare sector, most notably including imaging data, electronic health records, genomic data, and biomolecular data (Rajkomar et al., 2019; Topol, 2019). In terms of clinical biochemistry, multilayer artificial neural networks can be used for classifying laboratory results, predicting disease risk, evaluating biomarkers, and modeling complex relationships between different biochemical variables.

4. ARTIFICIAL INTELLIGENCE IN HEALTHCARE

The scope of artificial intelligence (AI) applications in healthcare is expanding rapidly alongside the growth of data generation and digital health systems. AI is utilized in various areas, such as medical imaging, clinical decision support systems, the analysis of electronic health records, risk prediction, patient monitoring, and the anticipation of clinical deterioration (Rajkomar et al., 2019).

Evaluating the vast amounts of data generated in healthcare settings manually can be time-consuming. AI systems can support healthcare professionals' decision-making processes by analyzing numerous variables simultaneously. However, it is crucial that AI-generated results be evaluated within a clinical context and that the final clinical decision be made by competent healthcare professionals.

This approach is particularly significant in laboratory medicine, as data obtained from clinical laboratories constitute a vital component of diagnostic and treatment processes. AI can contribute to the evaluation of laboratory data by considering multiple interconnected parameters rather than just isolated results.

5. CLINICAL BIOCHEMISTRY AND ARTIFICIAL INTELLIGENCE

Clinical biochemistry is a fundamental laboratory science involving the performance of numerous tests used in the diagnosis, monitoring, and treatment of patients. In clinical biochemistry, the most significant tangible data consist of analyses and test results. The field's inherent nature does not involve direct patient monitoring or treatment. A substantial portion of the data obtained in clinical biochemistry laboratories is structured in a tabular format; parameters such as glucose, creatinine, urea, AST, ALT, lipid profiles, electrolytes, and other biochemical markers are recorded as numerical values and can be evaluated alongside the patient's other clinical information. With the widespread adoption of digital laboratory systems, vast amounts of data are being generated in clinical biochemistry laboratories. It is crucial to securely store this data, process it accurately, and transform it into clinically meaningful information. Artificial intelligence methods can serve as a valuable tool for analyzing high-dimensional laboratory datasets and uncovering complex relationships between variables.

Undoubtedly, one of the most critical aspects of the field of biochemistry involves analyses and patient-related processes. It is well established that clinicians base approximately 70% of their decisions regarding diagnosis, prognosis, and procedures on biochemical analyses and tests. Biochemistry laboratories play a vital role in these clinical decision-making processes. One application of artificial intelligence in clinical biochemistry is the prediction of clinical outcomes based on laboratory test results. For instance, machine learning methods are being investigated for tasks such as estimating LDL cholesterol levels (Orhan, Deniz, Aydin, & Deveci Kocakoc, 2026), classifying cardiovascular disease risk, and establishing laboratory reference ranges (Muse, Placido, Haue, & Brunak, 2024).

Another potential contribution of artificial intelligence to clinical biochemistry lies in the development of proactive and predictive diagnostic approaches. The simultaneous evaluation of changes in multiple laboratory parameters over time can facilitate the development of early warning systems for clinical deterioration or the risk of specific diseases. However, for such systems to be implemented in clinical practice, they must be validated across diverse patient populations, undergo external validation studies, and demonstrate clinical reliability.

Molecular biochemistry represents another area where medical biochemistry intersects with artificial intelligence. Deep learning and generative AI methods are utilized in processes such as protein structure prediction, protein-protein interactions, protein design, ligand discovery, and drug development. Models like AlphaFold have driven significant advancements in protein structure prediction (Senior et al., 2020; Jumper et al., 2021; Abramson et al., 2024), while methods such as ProteinMPNN (Dauparas et al., 2022) and RFdiffusion (Watson et al., 2023) have opened up new avenues for research in protein design. Table 1 illustrates the diversity of key artificial intelligence applications within medical biochemistry. When we look at the fundamental research areas of medical biochemistry, we can list enzyme engineering, metabolic modeling, protein folding, and drug discovery as the fields experiencing the most significant developments and transformations.

Table 1. Machine Learning Models Used in Biochemistry and Examples from the Related Literature

Application Area	ML Models Used	Literature / Key Finding	Source
LDL-C estimation (lipid panel)	XGBoost, SVR, Random Forest, Linear Regression	XGBoost showed the highest correlation with directly measured LDL-C, outperforming the other ML models as well as the Friedewald, Martin–Hopkins, and Sampson formulas; it remained stable even in severe hypertriglyceridemia.	Orhan et al., 2026
Reference interval determination (indirect methods)	DBSCAN, clustering, Local Outlier Factor, Isolation Forest, Tukey	Unsupervised clustering + outlier detection on hospital big data for AST/ALT; DBSCAN + Tukey or LOF provided the best coverage. Indirect reference intervals were estimated for CKD using unsupervised ML.	Dash & Nayak, *Bioinformation*, 2025; *Sci Rep*, 2023
Laboratory medicine: preanalytical / analytical / postanalytical phases	Various supervised ML algorithms	Error reduction and verification of low-quality samples in the preanalytical phase; cost reduction and workflow optimization in the analytical phase; diagnostic and therapeutic guidance through result integration in the postanalytical phase.	*AME Medical Journal*, 2022 (review)
Disease classification using laboratory data	AdaBoost, Decision Tree, Artificial Neural Network (ANN), Random Forest	In ~22 million records from ~575,000 patients, 35 circulatory system diseases were classified after seasonal adjustment of 23 reference intervals; significant improvement in 24 of 35 cases with neural network models.	Muse et al., 2024
MALDI-TOF MS: microbial identification, AMR prediction	Classical ML + Deep Learning; generative AI (data augmentation)	Systematic review of 115 studies published 2004–2025; ML/DL used in bacterial identification, antimicrobial resistance prediction, and strain typing; DRIAMS and MARISMa open spectral databases.	*bioRxiv*, 2025 (systematic review)
Clinical prognosis (sepsis, CVD risk, cancer, clinical deterioration)	Random Forest, Logistic Regression, CNN, LSTM	RF is robust for sepsis prediction in high-dimensional data; logistic regression is interpretable for CVD risk.	Fascia, 2024 (comprehensive review)

Application Area	ML Models Used	Literature / Key Finding	Source
Protein structure prediction	AlphaFold (CNN) → AlphaFold2 (Evoformer/Transformer) → AlphaFold3; RoseTTAFold; ProteinBERT	AlphaFold2: first end-to-end structure prediction with Evoformer + Structure Module (ranked first in CASP14); AF2/RoseTTAFold achieve near-experimental accuracy; 2024 Nobel Prize in Chemistry.	Senior et al., 2020; Jumper et al., 2021; Baek et al., 2021; Brandes, Ofer, Peleg, Rappoport, & Linial, 2022; Abramson et al., 2024
Protein design	RFdiffusion (diffusion model), ProteinMPNN	AlphaFold, RoseTTAFold, RFdiffusion, and ProteinMPNN: four key models for atomic-level accuracy, functional protein engineering, and modeling of multicomponent biomolecular interactions.	Dauparas et al., 2022; Watson et al., 2023; *Biophysics Reviews*, 2025
Diagnostic biochemistry (biomarkers, antigen–antibody, missense mutations)	AlphaFold2 (MSA-Transformer-based deep neural networks)	AF2 is widely used in studies of disease biomarkers, pathogenicity, antigen–antibody structures, and missense mutations; it serves as a bridge in diagnostic research.	*Front. Mol. Biosci.*, 2024
Ligand discovery / drug design	AlphaFold3 (co-folding models)	Structure-guided ligand discovery with AF3; near-native pose for the most potent hit bound to the σ2 receptor; used as a screening engine and post-docking filter.	*bioRxiv*, 2025
Large language models (laboratory knowledge)	GPT-3.5 Turbo, GPT-4, GPT-4o	Comparison of reproducibility in generating reference intervals for clinical chemistry, hematology, immunology, and tumor markers.	*J Lab Med*, 2025

Note: ML = machine learning; SVR = support vector regression; RF = random forest; LOF = local outlier factor; CNN = convolutional neural network; LSTM = long short-term memory network; ANN = artificial neural network; MALDI-TOF MS = matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; AMR = antimicrobial resistance; CVD = cardiovascular disease; CKD = chronic kidney disease; LDL-C = low-density lipoprotein cholesterol; AF2/AF3 = AlphaFold2/AlphaFold3; MSA = multiple sequence alignment.

The use of artificial intelligence in clinical biochemistry laboratories can be evaluated across the three main phases of the laboratory process:

- *Preanalytical phase:* Evaluation of sample acceptance and rejection processes, detection of low-quality samples, identification of sample characteristics such as hemolysis, lipemia, and icterus, and reduction of preanalytical error rates.
- *Analytical phase:* Support for quality control processes, monitoring of instrument performance, identification of abnormal measurements, cost reduction, and optimization of laboratory workflow.
- *Postanalytical phase:* Combined evaluation of laboratory results, autoverification of results, identification of critical results, development of clinical decision support systems, and support for diagnostic and therapeutic processes.

When these three phases are considered together, it becomes evident that the role of artificial intelligence in clinical biochemistry is not limited to generating results; rather, it has the potential to support the entire laboratory process, from the arrival of the sample in the laboratory to the contribution of the result to the clinical decision.

6. LIMITATIONS OF ARTIFICIAL INTELLIGENCE IN MEDICAL BIOCHEMISTRY

While the widespread adoption of artificial intelligence applications in clinical biochemistry offers important opportunities, it also brings a number of limitations. Because clinical laboratory data are highly sensitive, data quality, data security, patient privacy, and model reliability are of particular importance.

The success of machine learning models depends largely on the quality of the data used. Incomplete, erroneous, imbalanced, or poorly representative datasets can adversely affect model performance. Moreover, models developed using data from a single hospital or laboratory may not perform equally well in other hospitals, on different instruments, in different populations, or with different laboratory methods (Cabitza & Banfi, 2018). For this reason, external validation and multicenter studies are important for the reliability of clinical artificial intelligence applications.

Another important issue is model interpretability. Particularly in complex deep learning models, it can be difficult to explain which variables led the model to a particular result. In clinical decision support systems, it is important for trust and safe use that healthcare professionals be able to understand the basis of the result generated by the model.

Rather than replacing clinical decisions, artificial intelligence systems are more appropriately regarded as tools that support the decision-making processes of clinicians and laboratory specialists. Therefore, the development and deployment of artificial intelligence applications require scientific validation, clinical evaluation, quality assurance, and an appropriate regulatory framework to be addressed together.

For clinical biochemists, the key message is that artificial intelligence should not supersede the clinician’s judgment but should instead strengthen the chain that leads from measurement to information, from information to interpretation, and from interpretation to clinical decision.

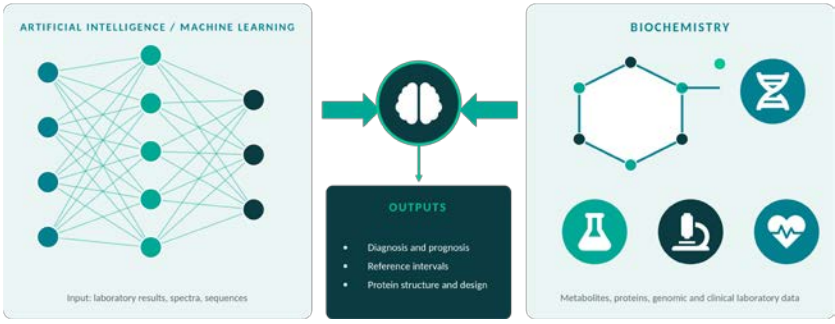


Figure 2. Use of artificial intelligence in clinical biochemistry.

7. ETHICS, SECURITY, AND DATA PRIVACY

The integration of artificial intelligence into healthcare technologies necessitates an evaluation not only of clinical benefits but also of ethical, security, and data privacy considerations. Since health data contains private and sensitive information about individuals, the collection, storage, and sharing of this data—as well as its use in developing artificial intelligence models—must be conducted within a framework of specific security and governance principles.

In Turkey, electronic health record systems such as e-Nabız constitute a crucial infrastructure for the digital management of health data. The data integrity and accessibility provided by such systems can offer significant opportunities for the development of artificial intelligence applications. However, the existence of large health databases also requires the careful management of risks related to data security and unauthorized access.

The widespread adoption of artificial intelligence tools in daily life and healthcare services introduces new risks regarding the sharing of personal health data with these systems. Transferring patient information, laboratory results, or clinical records to general-purpose artificial intelligence systems without

first removing personal identifiers can pose risks to patient privacy. Therefore, it is essential for healthcare professionals to adhere to security principles—such as data minimization, anonymization or appropriate pseudonymization methods, access authorization, and institutional policies—when using artificial intelligence tools.

Furthermore, artificial intelligence systems must be evaluated not only for data security but also for issues such as algorithmic bias, model errors, false positive and false negative results, explainability, and the determination of accountability. In clinical practice, the evaluation of AI-generated results under human oversight must be regarded as a fundamental requirement for safe and responsible use.

In this context, the protection of health data is not merely a technical security issue; it is also a multidimensional matter involving ethical, legal, and institutional responsibilities.

8. CONCLUSION

In conclusion, as in many areas of science and technology, artificial intelligence holds significant transformative potential in healthcare and particularly in the field of medical biochemistry. The analysis of the large volumes of tabular data generated in clinical biochemistry laboratories, the optimization of laboratory processes, the prediction of disease risks, the development of decision support systems, and the acceleration of molecular biochemistry research are among the principal areas in which artificial intelligence can contribute.

Nevertheless, the integration of artificial intelligence into clinical biochemistry should not be regarded merely as a technical process of software or algorithm development. Data quality, multicenter validation, clinical validity, model explainability,

patient privacy, data security, and ethical responsibilities must be addressed together.

The use of personal health data in accordance with the relevant legislation and data protection principles is one of the fundamental prerequisites for the development of artificial intelligence applications. The aim in this process is not to replace healthcare professionals, but to help them evaluate large and complex datasets more effectively, to reduce appropriate portions of their workload, and to support clinical decision-making processes with scientifically validated tools.

Artificial intelligence is expected to become increasingly integrated into clinical laboratories in the coming years. Whether this integration is carried out in a manner that is safe, verifiable, transparent, and aligned with clinical needs will be decisive for the sustainable use of artificial intelligence in medical biochemistry.

Accordingly, from the perspective of clinical biochemistry, the fundamental goal should be to position artificial intelligence as a technology that strengthens the chain from measurement to decision, supports the decisions of clinicians and laboratory specialists, and places patient safety at its center.

REFERENCES

Abramson, J., Adler, J., Dunger, J., Evans, R., Green, T., Pritzel, A., . . . Jumper, J. M. (2024). Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3. *Nature, 630*(8016), 493–500. https://doi.org/10.1038/s41586-024-07487-w

Arf, C. (1959). *Makine düşünebilir mi ve nasıl düşünebilir?* [Can a machine think and how can it think?] (Konferanslar Serisi No. 1). Erzurum, Turkey: Atatürk Üniversitesi.

Baek, M., DiMaio, F., Anishchenko, I., Dauparas, J., Ovchinnikov, S., Lee, G. R., . . . Baker, D. (2021). Accurate prediction of protein structures and interactions using a three-track neural network. *Science, 373*(6557), 871–876. https://doi.org/10.1126/science.abj8754

Bishop, C. M. (2006). *Pattern recognition and machine learning*. New York, NY: Springer.

Brandes, N., Ofer, D., Peleg, Y., Rappoport, N., & Linial, M. (2022). ProteinBERT: A universal deep-learning model of protein sequence and function. *Bioinformatics, 38*(8), 2102–2110. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btac020

Cabitza, F., & Banfi, G. (2018). Machine learning in laboratory medicine: Waiting for the flood? *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 56*(4), 516–524. https://doi.org/10.1515/cclm-2017-0287

Dauparas, J., Anishchenko, I., Bennett, N., Bai, H., Ragotte, R. J., Milles, L. F., . . . Baker, D. (2022). Robust deep learning–based protein sequence design using ProteinMPNN. *Science, 378*(6615), 49–56. https://doi.org/10.1126/science.add2187

Goodfellow, I., Bengio, Y., & Courville, A. (2016). *Deep learning*. Cambridge, MA: MIT Press.

Hastie, T., Tibshirani, R., & Friedman, J. (2009). *The elements of statistical learning: Data mining, inference, and prediction* (2nd ed.). New York, NY: Springer. https://doi.org/10.1007/978-0-387-84858-7

Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., Green, T., Figurnov, M., Ronneberger, O., . . . Hassabis, D. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature, 596*(7873), 583–589. https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-0

Muse, V. P., Placido, D., Haue, A. D., & Brunak, S. (2024). Seasonally adjusted laboratory reference intervals to improve the performance of machine learning models for classification of cardiovascular diseases. *BMC Medical Informatics and Decision Making, 24*, 62. https://doi.org/10.1186/s12911-024-02467-6

Orhan, B., Deniz, L., Aydin, C., & Deveci Kocakoc, I. (2026). Comparative evaluation of machine learning models and conventional formulas for LDL cholesterol estimation. *Diagnostics, 16*(13), 2031. https://doi.org/10.3390/diagnostics16132031

Rajkomar, A., Dean, J., & Kohane, I. (2019). Machine learning in medicine. *New England Journal of Medicine, 380*(14), 1347–1358. https://doi.org/10.1056/NEJMra1814259

Senior, A. W., Evans, R., Jumper, J., Kirkpatrick, J., Sifre, L., Green, T., . . . Hassabis, D. (2020). Improved protein structure prediction using potentials from deep learning. *Nature, 577*(7792), 706–710. https://doi.org/10.1038/s41586-019-1923-7

Topol, E. (2019). *Deep medicine: How artificial intelligence can make healthcare human again*. New York, NY: Basic Books.

Watson, J. L., Juergens, D., Bennett, N. R., Trippe, B. L., Yim, J., Eisenach, H. E., . . . Baker, D. (2023). De novo design of protein structure and function with RFdiffusion. *Nature*, *620*(7976), 1089–1100. https://doi.org/10.1038/s41586-023-06415-8

ANTICANCER EFFECTS OF PROPOLIS AND ITS POLYPHENOLIC COMPOUNDS: MOLECULAR AND CELLULAR MECHANISMS

Şehnaz Nisa YILDIRIM[1]

Semra ALKAN TÜRKUÇAR[2]

1. INTRODUCTION

Cancer, a disease that seriously affects the global human population, is a global public health issue arising from the accumulation of genetic and epigenetic mutations, which leads to the uncontrolled regulation of cell growth, proliferation and death mechanisms (Altabbal et al. 2023; Memmedov, Aldemir, and Aliyev 2018; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). While cell growth is strictly regulated under normal physiological conditions, this homeostatic balance is disrupted when various genotoxic agents cause permanent damage to DNA and chromosomes, i.e., hereditary material, thereby triggering the carcinogenesis process (Yıldız and Ünal 2022). Malignant cells pose a systemic threat by developing resistance to growth inhibition, evading apoptosis, escaping immune system control, producing their own growth signals, triggering angiogenesis and, consequently, metastasising to distant organs (Altabbal et al. 2023; Forma and Bryś 2021; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022; Patel 2016). The pathophysiology of the disease is not

[1] Dietician, Alanya Alaaddin Keykubat University, Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics, Alanya, Antalya, Turkey, ORCID: 0009-0004-1966-7195.

[2] Asst. Prof. Dr., Alanya Alaaddin Keykubat University, Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics, Alanya, Antalya, Turkey, ORCID: 0000-0002-7763-3880.

dependent on a single cause but has a highly complex and multifactorial structure based on the interactions of genetic predispositions and environmental mutagens (Patel 2016; Yıldız and Ünal 2022).

Today, in the field of oncology, chemotherapy, radiotherapy, and surgical interventions are accepted as standard treatment methods for cancer. These treatment methods are of primary importance in controlling the tumor mass and prolonging the survival times of patients (Altabbal et al. 2023; Bayram et al. 2015; Patel 2016). However, as current chemotherapeutic agents are pharmacologically non-specific and damage healthy body tissues as well as tumour cells, they cause severe systemic toxicity, immunosuppression and a significant decline in quality of life in patients (Altabbal et al. 2023; Bayram et al. 2015; Onur, Nalbantsoy, and Kışla 2018). Furthermore, the multi-drug resistance (MDR) and adaptive survival mechanisms that cancer cells develop over time dramatically limit the clinical success of conventional treatments (Altabbal et al. 2023; Hossain et al. 2022; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). These major limitations and the challenges faced by modern medicine have prompted the scientific world to research biocompatible, natural secondary metabolites that can both protect healthy cells and simultaneously target tumor cells through different molecular signaling pathways (Eren and Besler 2025; Hossain et al. 2022; Onur et al. 2018; Yıldız and Ünal 2022).

Propolis, a natural defence substance produced by worker honeybees (*Apis mellifera* L.), is one of the bee products with the widest range of pharmacological activities, and its integration into clinical oncology as a standard product is of great importance in modern medical research (Coşkun and İnci 2020; Hossain et al. 2022; Huang et al. 2014; Yıldız and Ünal 2022). Propolis is rich in polyphenols, flavonoids, and caffeic acid phenethyl ester (CAPE), a phenolic acid derivative. Owing to these bioactive

compounds, propolis has been reported to exhibit antioxidant, anti-inflammatory, broad-spectrum antimicrobial, immunomodulatory, and anti-cancer activities, positioning it as a potential therapeutic agent (Albayrak and Albayrak 2008; Bayram et al. 2015; Böke Sarıkahya et al. 2021; Campoccia et al. 2021; Coşkun and İnci 2020; Cui et al. 2022; Ertürk and Güler 2013; Hossain et al. 2022; Huang et al. 2014; Tarım ve Orman Bakanlığı 2024; Ünal et al. 2020; Yıldız and Ünal 2022).

Furthermore, it is reported that propolis can contribute to the reduction of systemic toxicities associated with oncological treatments such as chemotherapy and radiotherapy, and therefore can be evaluated as a supportive (adjuvant) agent. In this section, the molecular and cellular mechanisms underlying the anticancer effects of propolis and its polyphenolic compounds are comprehensively evaluated (Bayram et al. 2015; Hossain et al. 2022; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022; Patel 2016).

2. PROPOLIS AND ITS CHEMICAL COMPOSITION

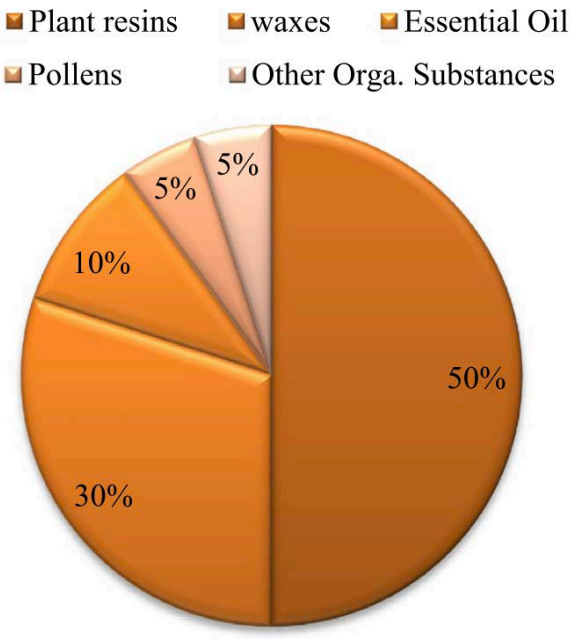
2.1. Definition and Formation of Propolis

Propolis is a type of functional food and a special sticky substance that worker honeybees (*Apis mellifera* L.) obtain by combining resins collected from sources such as branches, flowers, fruits, shoots, buds, and tree barks of plants with wax, pollen, and enzymes (Anjum et al. 2019; Pilario, Tielemans, and Mojica 2021; Yıldız and Ünal 2022). This natural product, produced by worker honeybees (*Apis mellifera* L.) through biologically transforming these collected exudates and resins with enzymes such as β-glucosidase secreted from their own salivary glands and blending them with beeswax, is defined as the chemical and biological defense shield of the beehive (Altabbal et al. 2023; Forma and Bryś 2021; Memmedov, Aldemir, and

Aliyev 2017). Derived from the two Ancient Greek terms “pro” and “polis”, it is used to mean “the defence of the city” or “the city’s gateway” (Eren and Besler 2025; Hossain et al. 2022; Memmedov et al. 2018).

Propolis is a natural amorphous substance defined as the chemical and biological defense shield of the beehive, which is sticky, has a unique pleasant odor, and has color tones ranging from dark yellow to brown (Araba and Özparlak 2022; Eren and Besler 2025; Hossain et al. 2022; Memmedov et al. 2018). While propolis is hard and brittle in cold environments of 0°C, it turns into a soft and pliable texture when heated to 25–45°C, and can melt at temperatures of 60–70°C (Araba and Özparlak 2022; Çalışkol Maden 2013; Onur et al. 2022). This complex resin matrix collected by bees from plant flora, as a general rule of thumb in its raw state, contains approximately 50% plant resins and balsams, 30% beeswax, 10% essential and aromatic oils, 5% pollen, and the remaining 5% consists of various chemical constituents such as vitamins, macro- and microelements, phenolic acids such as cinnamic and caffeic acid, diverse flavonoid groups, aromatic aldehydes, terpenes, lignans, β-steroids, and their prenylated derivatives (Altabbal et al. 2023; Doğan et al. 2022; Huang et al. 2014; Ibrahim and Alqurashi 2022; Pilario, Tielemans, and Mojica 2022; Rushdi et al. 2014; Salleh et al. 2021; Song et al. 2021).

Fig 1.



Chemical composition (%) of raw propolis (Hossain et al. 2022)

The raw propolis used in the preparation of propolis must comply with the Turkish Food Codex Regulation on Bee Products (Table 1) (Tarım ve Orman Bakanlığı 2024).

Table 1. Properties of raw propolis (Tarım ve Orman Bakanlığı 2024)

Balsam Content (% m/m, minimum)	40
Dry Matter Content (% m/m, minimum)	92
Total Phenolic Content (gallic acid equivalent) (% m/m, minimum)	10
Total Flavonoid Content (quercetin equivalent) (% m/m, minimum)	3
Beeswax Content (% m/m, maximum)	50

Propolis must contain at least five of the compounds listed in Table 2. Each of these five compounds must be present at a concentration of at least 2,000 mg/kg in raw propolis, at least 4,000 mg/kg in powdered or concentrated forms of propolis, and at least 500 mg/L in liquid forms of propolis (Tarım ve Orman Bakanlığı 2024).

Table 2. Phenolic acids that may be found in propolis (Tarım ve Orman Bakanlığı 2024)

Coumaric acid (sum of o-, m-, and p-coumaric acids)
Pinobaksin
Galangin
The sum of cinnamic acid and 3,4-dimethoxycinnamic acid
Krisin
Pinocembrin
Caffeic Acid
Caffeic Acid Phenethyl Ester
Kaempferol
Ferulic acid (sum of iso- and trans-ferulic acid)
Quercetin
Naringenin
Rutin
Apigenin
Rotocatechuic Acid
Artepillin C

Fig 2. Propolis (Çalışkol Maden 2013)

2.2. Chemical Components of Propolis

The pharmacological potency of propolis stems from the synergistic interaction of the hundreds of bioactive compounds it contains (Memmedov et al. 2017; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). To date, more than 800 different molecules have been identified in propolis samples collected from different geographies on a global scale. It has been determined that there

are over 300 functional compounds in the structure of a standard propolis, largely consisting of polyphenols, along with phenolic acids and their esters, flavonoids, and inorganic compounds (Eren and Besler 2025; Forma and Bryś 2021; Mehmetoğlu et al. 2017; Memmedov et al. 2017; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022).

The major phytochemical groups determining anticancer and biological activities are classified below:

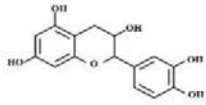
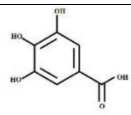
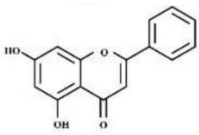
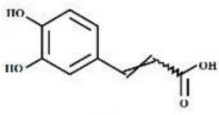
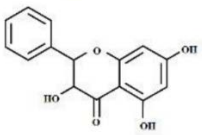
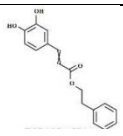
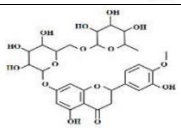
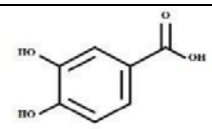
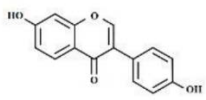
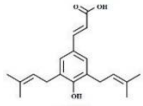
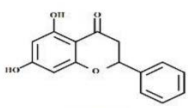
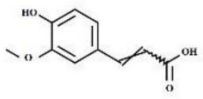
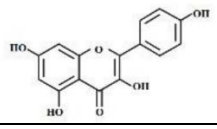
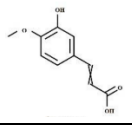
- **Polyphenols:** Forming the basic chemical framework and biological defense line of propolis, polyphenols are highly potent secondary metabolites synthesized by plants to protect themselves against external stress factors (Eren and Besler 2025; Mehmetoğlu et al. 2017; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). By virtue of their molecular structures, these compounds not only exhibit a scavenger effect capable of rapidly neutralizing free radicals that trigger oxidative stress, but they also play a key role in preventing the initiation and progression stages of carcinogenesis through their regulatory roles on cellular signaling pathways that sustain cancer cell survival (Altabbal et al. 2023; Memmedov et al. 2017; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022; Patel 2016).
- **Flavonoids:** As a group of polyphenols, flavonoids are the main bioactive class that determines the quality of propolis. They are the primary bioactive chemical class that determines propolis's distinctive odour, characteristic colour and, perhaps most importantly, its medicinal and biological quality; they also possess the highest oncological therapeutic value (Bayram et al. 2015; Eren and Besler 2025; Forma and Bryś 2021). As flavonoids cannot be synthesised by the human body, these complex compounds must be obtained from external sources, either through diet or supplements; they are classified into

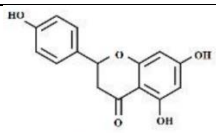
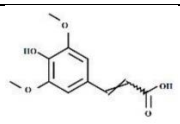
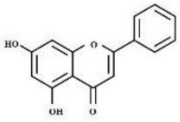
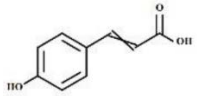
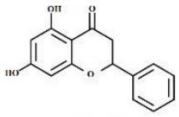
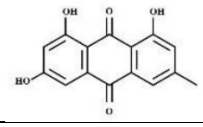
various sub-groups, such as flavones, flavonols, flavanones and chalcones, according to their molecular structure (Eren and Besler 2025; Forma and Bryś 2021; Yıldız and Ünal 2022). According to extensive pharmacological research, it has been conclusively proven that molecules such as pinocembrin, apigenin, galangin, kaempferol and quercetin form the fundamental building blocks of propolis's anticancer properties (Altabbal et al. 2023; Doğan et al. 2022; Forma and Bryś 2021; Singla et al. 2025; Tuli et al. 2022). These flavonoids trigger cell cycle arrest to halt the uncontrolled division of cancer cells and significantly inhibit tumour spread by directly activating mechanisms that induce apoptosis in tumour cells (Altabbal et al. 2023; Forma and Bryś 2021; Patel 2016; Szliszka and Krol 2013).

- **Phenolic Acids and Their Esters**: Alongside the flavonoid group, this is another key bioactive group that demonstrates the systemic antioxidant and anti-inflammatory effects of propolis and has yielded extremely positive results in preclinical oncology studies (Memmedov et al. 2017; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). Based on their chemical structures, they are divided into two main branches: benzoic acid derivatives and cinnamic acid derivatives (Doğan et al. 2022; Memmedov et al. 2017). Benzoic acid and its derivatives (m-hydroxybenzoic acid, p-hydroxybenzoic acid, gallic acid, vanillic acid, isovanillic acid, syringic acid), cinnamic acid and its derivatives (o-coumaric acid, p-coumaric acid, caffeic acid, ferulic acid, isoferulic acid, sinapic acid) are the most commonly found phenolic acids under this heading. Ferulic acid, p-coumaric acid and, in particular, Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)—a highly active ester form of caffeic acid—which are

included in this group; is recognised in the oncology literature as the most critical anti-cancer molecule, which permanently blocks the chronic inflammatory pathways that promote cancer development, prevents the tumour from spreading to surrounding tissues, and strongly inhibits the growth of the tumour mass, thereby maximising the oncological value of propolis (Ahn et al. 2007; Altabbal et al. 2023; Armutcu et al. 2015; Memmedov et al. 2017; Murtaza et al. 2014; Patel 2016; Szliszka and Krol 2013).

Table 3. Some polyphenols found in the chemical composition of propolis (Doğan et al. 2022)

Catechin		**Gallic Acid**	
Galangin		**Caffeic Acid**	
Pinobanksin		**Caffeic Acid Phenethyl Ester**	
Hesperidin		**Protocatechuic Acid**	
Daidzein		**Artepillin C**	
Pinocembrin		**Ferulic Acid**	
Kaempferol		**Isoferulic Acid**	

Naringenin		**Sinapic Acid**	
Chrysin		***p*-Coumaric acid**	
Pinostrobin		**Emodin**	

2.3. Variations in Content Based on Geographical Origin

The chemical profile of propolis is not fixed and does not have a single standard formula; it exhibits varying degrees of variation depending on the geographical region where the bees forage, the local plant flora, climatic conditions, the season in which it is harvested, and the bee breed (Altabbal et al. 2023; Doğan et al. 2022; Eren and Besler 2025; Memmedov et al. 2017; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). This phytochemical diversity has established the foundation for the emergence of different propolis ecotypes with specific bioactive properties on a global scale (Doğan et al. 2022; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). “Poplar-Type Propolis," which is widely produced in the temperate climate zones of Turkey, Europe, and North America, and whose botanical source is generally poplar trees (*Populus* spp.), is extremely rich in flavonoids (chrysin, galangin, pinocembrin) and phenolic acid esters, particularly Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) (Altabbal et al. 2023; Eren and Besler 2025; Memmedov et al. 2017; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022) In contrast, "Brazilian Green Propolis" (Alecrim), containing resin primarily obtained from the *Baccharis dracunculifolia* plant in tropical regions of Brazil, distinctively contains abundant amounts of prenylated *p*-coumaric acid

derivatives and the Artepillin C molecule, which exhibits strong oncological efficacy. Similarly, while "Red Propolis"—produced in Northeast Brazil, Cuba, and Southeast Mexico, originating primarily from the resins of *Dalbergia ecastaphyllum* (a member of the Asteraceae family)—is rich in flavonoids such as pinobanksin and quercetin as well as polyprenylated benzophenones; Pacific propolis found in tropical regions such as Okinawa and Taiwan possesses a chemical composition rich in C-prenylflavanones (propolins), and Mediterranean propolis is rich in diterpenes because honeybees in the Mediterranean region collect the resin of the Mediterranean cypress (*Cupressus sempervirens*) (Doğan et al. 2022; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022; Pierański, Kaniowski, and Szweda 2025). Although this naturally occurring botanical and geographic heterogeneity poses pharmacological challenges during the industrial and clinical standardization processes of propolis samples, it enables different propolis types to exert potent therapeutic and cytotoxic effects on various cancer cell lines through their unique molecular mechanisms (Doğan et al. 2022; Eren and Besler 2025; Forma and Bryś 2021; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). Alongside samples from around the world, Turkish propolis is rich in phenolic acids such as 3,4-dimethoxycinnamic acid, catechin, myristic acid, naringenin, protocatechuic acid, sinapic acid, pinostrobin, daidzein, trans-chalcone, hesperidin, trans-3-hydroxycinnamic acid, gallic acid, trans-cinnamic acid, emodin, and coumaric acid, as well as flavonoids and derivatives including chrysin, galangin, pinocembrin, and caffeic acid phenethyl ester (Keskin, Yatanaslan, and Karlidag 2020; Ozdal et al. 2019; Özkök et al. 2021; Tarım ve Orman Bakanlığı 2024).

Various propolis types commonly found worldwide and their characteristic features are presented in Table 4 (Coşkun and İnci 2020).

Table 4. Common types of propolis and their characteristics (Coşkun and İnci 2020)

Type of Propolis	**Geographical Region**	**Plant Species**	**Parent Compund**
Poplar Propolis	Europe, North America, Asia (non-tropical), Australia and New Zealand	*Populus spp., P. nigra L.*	Flavones, Flavonones, Cinnamic Acid And Its Esters
Birch Propolis	Russia and the Arctic Region	*Betula verrucosa*	Flavones And Flavonoids
Green Propolis	Brazil	*Baccharis spp., B. dracunculifolia*	Prenylated *p*-Coumaric Acid And Diterpenic Acid
Red Propolis	Cuba, Brazil and Mexico	*Dalbergia spp.*	Isoflavonoids (isoflavones, pterocarpalins)
Mediterranean Propolis	Sicily, Malta, Greece and Crete	*Cupressaceae*	Labdane-type diterpenes
Clusia Propolis	Cuba, Venezuela	*Clusia spp.*	Polyprenylated benzophenones
Pacific propolis	The Pacific Ocean Region (Taiwan, Indonesia) and the Okinawa Islands	*Macaranga tanarius*	C-prenyl-flavonoids

3. BIOLOGICAL ACTIVITIES OF PROPOLIS

3.1. Antioxidant Activity

Compounds that inhibit oxidation or delay its occurrence are called antioxidants (Araba and Özparlak 2022; Çalışkol Maden 2013). Antioxidants possess the ability to prevent or slow down the oxidation of lipids (Araba and Özparlak 2022; Coşkun and İnci 2020). One of the most well-known biological properties of propolis, which also forms the basis of all its other pharmacological effects, is its antioxidant capacity (Bayram et al. 2015; Coşkun and İnci 2020; Huang et al. 2014; Yıldız and Ünal 2022). Owing to the polyphenols, phenolic acids, and flavonoids it contains, propolis rapidly neutralizes intracellular free radicals and reactive oxygen species (ROS) as a potent electron donor (Ahn et al. 2007; Coşkun and İnci 2020; Hossain et al. 2022; Irigoiti et al. 2021; Shehata et al. 2020; Yıldız and Ünal 2022). The scavenging effect not only prevents lipid peroxidation in cellular membranes by suppressing oxidative stress, but it also upregulates the activities of endogenous antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase, and catalase, thereby providing potent protection for cells against oxidative genotoxic damage (Ahn et al. 2007; Bayram et al. 2015; Hossain et al. 2022; Yıldız and Ünal 2022).

3.2. Anti-inflammatory Effect

Inflammation is defined as the entire chain of events resulting in the loss of tissue function due to phagocyte migration and the accumulation of monocytes, neutrophils, and macrophages (Memmedov et al. 2017). Chronic inflammation plays a triggering role in the onset of carcinogenesis, the development of the tumor microenvironment, and the pathogenesis of chronic autoimmune disorders such as Inflammatory Bowel Disease (IBD) (Demir 2022; Hossain et al. 2022; Patel 2016). Propolis, and particularly the molecules it

contains such as Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE), quercetin, galangin, and naringenin, exerts a potent anti-inflammatory effect by suppressing the cellular production and release of pro-inflammatory cytokines (Bayram et al. 2015; Hossain et al. 2022; Mehmetoğlu et al. 2017; Memmedov et al. 2017). At the molecular level, it directly blocks the nuclear translocation of the NF-κB transcription factor—the master regulator of inflammation—and inhibits inflammation by halting the synthesis of the cyclooxygenase-2 (COX-2) and lipoxygenase (LOX) enzymes. (Armutcu et al. 2015; Hossain et al. 2022; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022; Yıldız and Ünal 2022). Through these mechanisms, it has been demonstrated at clinical and preclinical levels that propolis functions as a natural symptom-relieving therapeutic agent in the treatment of gastric ulcers, dermatological conditions, respiratory tract infections, and colonic tissue lesions (Coşkun and İnci 2020; Hossain et al. 2022; Huang et al. 2014; Yıldız and Ünal 2022).

3.3. Antimicrobial Properties

The instinct of bees to keep the hive completely sterile against microorganisms and decomposition has enabled propolis to become one of the most potent and broad-spectrum antimicrobial agents in nature (Coşkun and İnci 2020; Eren and Besler 2025; Huang et al. 2014; Mehmetoğlu et al. 2017)). Pharmacological and microbiological studies have demonstrated that propolis extracts disrupt the cell wall integrity of pathogenic Gram-positive and Gram-negative bacteria, inhibit microbial protein synthesis, and irreversibly prevent biofilm formation (Coşkun and İnci 2020; Hossain et al. 2022; Huang et al. 2014; Mehmetoğlu et al. 2017; Yıldız and Ünal 2022). According to other studies, while propolis exhibits a significant effect on Gram-positive bacteria, it shows limited activity against Gram-negative bacteria (Albayrak and Albayrak 2008; Almuhayawi 2020; Araba and Özparlak 2022; Mizuno et al. 2022; Vadillo-

Rodríguez et al. 2021; Vică et al. 2021). At the same time, it exerts an antiviral effect against enveloped viruses such as herpes simplex (HSV), influenza, and adenovirus by blocking viral entry into the host cell and viral replication (Coşkun and İnci 2020; Hossain et al. 2022; Huang et al. 2014; Yıldız and Ünal 2022) Furthermore, since it exhibits strong antifungal activity against various pathogenic fungal species by disrupting cell membrane functions, it holds potential for use as a natural preservative in the food industry and as an antimicrobial agent in the medical field (Coşkun and İnci 2020; Hossain et al. 2022; Huang et al. 2014; Mehmetoğlu et al. 2017; Yıldız and Ünal 2022).

3.4. Immunomodulatory Effects

The therapeutic effect of propolis on biological defense systems is not limited to directly destroying external pathogens, but also encompasses bidirectionally modulating the host's (human) own immune system (Armutcu et al. 2015; Hossain et al. 2022; Onur et al. 2018). Bioactive extracts stimulate the phagocytosis capacity of macrophages, increase the activity of Natural Killer (NK) cells, and strengthen cellular immunity at a systemic level by regulating the proliferation of specific T-lymphocyte subsets (Hossain et al. 2022; Onur et al. 2018; Yıldız and Ünal 2022). This specific immunomodulatory and cell-regenerative property both balances the homeostasis of the gut microbiome against chronic illnesses such as Crohn's disease and presents a complementary strategy in oncological immunotherapies by facilitating faster recognition and destruction of malignant tumor cells by the immune system (Hossain et al. 2022; Mehmetoğlu et al. 2017; Onur et al. 2018; Yıldız and Ünal 2022).

4. BASIC MECHANISMS IN CANCER DEVELOPMENT

4.1. Cell Proliferation and Control Mechanisms

At the root of cancer lies the failure of cells to respond to normal signals governing growth, differentiation and division, and their uncontrolled proliferation (Memmedov et al. 2018). In healthy tissues, the cell cycle is monitored through highly stringent mechanisms via cyclins and cyclin-dependent kinases (CDKs). However, during carcinogenesis, these vital control mechanisms become disabled due to the hyperactivation of proto-oncogenes and loss-of-function alterations in tumor suppressor genes such as p53 and Rb (Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). These malfunctions occurring at critical checkpoints of the cell cycle, such as G1/S and G2/M, prevent the cycle arrest and repair of cells with damaged DNA (Yıldız and Ünal 2022). Consequently, cells acquiring a malignant character pose a systemic threat by developing resistance to growth inhibition signals, evading apoptotic mechanisms, escaping immune system surveillance, autonomously producing their own growth factors, triggering new blood vessel formation by stimulating angiogenesis, and ultimately gaining the ability to metastasize to distant tissues(Altabbal et al. 2023; Forma and Bryś 2021; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022; Patel 2016)**.**

4.2. Apoptosis and Cell Death Pathways

Apoptosis is programmed cell death that ensures the safe removal of cells with irreparable DNA damage, infected cells, or senescent cells from the system without harming surrounding tissues and without inducing inflammation (Szliszka and Krol 2013). One of the most prominent phenotypic hallmarks of cancer cells is evading cellular suicide signals and acquiring survival capability (Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). By manipulating mitochondrial (intrinsic) and death receptor (extrinsic) signaling pathways, malignant cells suppress the activity of pro-apoptotic proteins such as Bax and Bak as well as caspase enzymes (caspase-3, 8, 9 cascade). Simultaneously, by abnormally elevating the expression of anti-apoptotic proteins such as Bcl-2 and Bcl-xL that support cell survival, they acquire apoptotic resistance and achieve biological immortality (Altabbal et al. 2023; Forma and Bryś 2021).

4.3. Oxidative Stress and DNA Damage

Oxidative stress, which emerges when intracellular reactive oxygen species (ROS) such as hydroxyl radicals and superoxide anions as well as free radicals exceed the organism's cellular antioxidant defense capacity, is one of the most significant triggers of carcinogenesis (Ahn et al. 2007; Memmedov et al. 2017). Strand breaks, base modifications, and structural alterations caused directly or indirectly on DNA by environmental mutagens, genotoxic agents, and endogenous free radicals lead to permanent mutations in the genetic material of healthy cells (Yıldız and Ünal 2022). The accumulation of these genetic and epigenetic lesions completely overwhelms the cell's own DNA repair mechanisms, initiating malignant transformation at the cellular level and accelerating tumor progression (Bayram et al. 2015; Coşkun and İnci 2020; Huang et al. 2014).

4.4. Inflammation and Tumor Microenvironment

There is a directly reciprocal relationship between chronic inflammatory processes and cancer development at the molecular and cellular levels (Armutcu et al. 2015; Murtaza et al. 2014). During inflammatory processes, pro-inflammatory cytokines (TNF-α, IL-1β, IL-6) secreted by macrophages and other immune cells continuously maintain the active nuclear translocation of critical transcription factors such as NF-κB and STAT3 (Armutcu et al. 2015; Patel 2016). This chain of reactions not only supports the survival and uncontrolled proliferation of tumor cells, but also triggers the release of enzymes that facilitate metastasis and the tumor's own angiogenesis, thereby creating a highly permissive and nurturing biological tumor microenvironment (TME) for carcinogenesis (Altabbal et al. 2023; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022).

In addition to this process, the patient's dietary habits directly and systematically influence the inflammatory burden within the tumor microenvironment (Patel 2016; Pierański et al. 2025). While pro-inflammatory diets rich in trans fats and refined carbohydrates increase oxidative stress at the cellular level and trigger the NF-κB pathway, incorporating biological agents with high polyphenol and antioxidant capacity such as propolis into the dietary routine neutralizes this metabolic damage and deprives cancerous cells of microenvironmental support (Hossain et al. 2022; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022; Yıldız and Ünal 2022).

5. THE MECHANISMS OF ACTION OF PROPOLIS IN THE TREATMENT OF CANCER

5.1. Induction of Apoptosis

The induction of programmed cell death (apoptosis) in malignant cells is one of propolis's most potent anti-cancer mechanisms (Altabbal et al. 2023; Szliszka and Krol 2013). Propolis components that exert their effect via the mitochondrial (intrinsic) pathway of apoptosis trigger the formation of the apoptosome by increasing mitochondrial membrane permeability (Forma and Bryś 2021; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). One of the critical steps in this process is irreversibly shifting the balance between the pro-apoptotic Bax protein and the anti-apoptotic Bcl-2 protein (Bax/Bcl-2 ratio) toward cell death (Altabbal et al. 2023; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). While suppressing the expression of Bcl-2, which promotes cell survival, propolis and its derivatives increase Bax levels, thereby inducing the release of cytochrome c from the mitochondria into the cytosol (Bayram et al. 2015; Forma and Bryś 2021). The release of cytochrome c irreversibly executes DNA fragmentation at the cellular level by activating the intracellular caspase cascade, particularly the initiator Caspase-9 and executioner Caspase-3 enzymes (Altabbal et al. 2023; Hossain et al. 2022; Szliszka and Krol 2013).

5.2. Cell Cycle Arrest

Propolis and its polyphenolic components inhibit the uncontrolled proliferation of cancer cells by directly interfering with cell cycle checkpoints (Altabbal et al. 2023; Doğan et al. 2022). Under normal conditions, progression through the cell cycle depends on specific cyclins and cyclin-dependent kinases (CDKs) forming active complexes (Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022; Pierański et al. 2025). Bioactive extracts block the

functions of cyclin-CDK complexes by reducing cyclin D and E levels and increasing the expression of CDK inhibitors such as p21 and p27 (Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022; Patel 2016). This regulation prevents further progression of cancer cells through the cycle, resulting in prominent G0/G1 and G2/M phase arrest. Consequently, the proliferative capacity of the tumor mass is successfully halted at the cellular level (Altabbal et al. 2023; Doğan et al. 2022; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022).

5.3. Antioxidant Mechanisms

Oxidative stress and cellular DNA damage play critical roles in carcinogenesis (Ahn et al. 2007; Memmedov et al. 2017). With its rich phenolic and flavonoid composition, propolis forms a highly potent antioxidant barrier (Ahn et al. 2007; Coşkun and İnci 2020; Huang et al. 2014). One of its primary chemopreventive mechanisms is its capacity to scavenge intracellular reactive oxygen species (ROS), such as hydroxyl radicals and superoxide anions, with high efficiency (Hossain et al. 2022; Yıldız and Ünal 2022).

Detailed chemical characterization (LC-MS/MS) studies on Turkish propolis introduced into the literature in recent years have demonstrated that this local propolis type is remarkably rich in phenolics such as catechin, gallic acid, and trans-cinnamic acid, and that this richness is directly associated with high antioxidant capacity (Keskin et al. 2020; Özkök et al. 2021). More importantly, the high bioavailability rates of these specific polyphenolic compounds in the gastrointestinal tract allow antioxidant molecules to reach the cytosol of target cancer cells intact, thereby maximizing chemopreventive efficacy and ROS neutralization at the cellular level (Ozdal et al. 2019). This bidirectional antioxidant defense protects the genetic material of healthy cells while neutralizing the pro-oxidant balance within

the tumor microenvironment (Ahn et al. 2007; Hossain et al. 2022; Yıldız and Ünal 2022).

5.4. Anti-inflammatory Effects

Chronic inflammation within the tumor microenvironment (TME) directly supports the survival and dissemination of malignant cells (Armutcu et al. 2015; Murtaza et al. 2014). Propolis disrupts cellular inflammation pathways by directly blocking the activation and nuclear translocation of the NF-κB transcription factor, the master regulator of the inflammatory cascade (Armutcu et al. 2015; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022; Patel 2016). In parallel with NF-κB inhibition, the production and release of pro-inflammatory cytokines such as TNF-α, IL-1β, and IL-6 released from macrophages and other immune cells at the inflammation site are tightly regulated and suppressed (Murtaza et al. 2014; Yıldız and Ünal 2022) This eliminates the tumor-promoting effects of inflammation, depriving cancer cells of microenvironmental support (Altabbal et al. 2023; Hossain et al. 2022; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022).

5.5. Effects on Metastasis and Angiogenesis

Metastasis and tissue invasion, the primary cause of mortality in cancer, occur when tumor cells access blood vessels and disseminate to distant organs (Altabbal et al. 2023; Patel 2016). Propolis specifically inhibits the activity of matrix metalloproteinase enzymes that pave the way for cancer cells by degrading the extracellular matrix and basement membrane, thereby blocking tissue invasion (Coşkun and İnci 2020; Forma and Bryś 2021; Huang et al. 2014; Tuli et al. 2022). Furthermore, the angiogenic process required by the tumor mass for nourishment and growth is disrupted through the suppression of the Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) signaling pathway by propolis (Altabbal et al. 2023; Oršolić and Jazvinšćak

Jembrek 2022). This simultaneous inhibition of angiogenesis and MMP activity substantially diminishes the aggressive and metastatic potential of the tumor (Altabbal et al. 2023; Coşkun and İnci 2020; Huang et al. 2014; Patel 2016).

6. THE ROLE OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS OF PROPOLIS

6.1. Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)

The most pharmacologically active and oncologically researched polyphenolic component of propolis is Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) (Hossain et al. 2022; Yıldız and Ünal 2022). CAPE exhibits very potent antineoplastic effects, specifically by blocking the activation of the NF-κB transcription factor, which forms the basis of the inflammatory cascade, particularly in cancer cells (Armutcu et al. 2015; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022; Yıldız and Ünal 2022). Its greatest advantage over conventional chemotherapeutic agents is that it exhibits selective cytotoxicity. Whilst CAPE rapidly induces apoptosis in malignant cells and halts cell proliferation, the fact that it does not damage healthy cells highlights its potential as an adjuvant in clinical oncology (Altabbal et al. 2023; Hossain et al. 2022; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022).

6.2. Quercetin

Quercetin, a common dietary flavonoid abundantly present in the chemical matrix of propolis, is a broad-spectrum bioactive molecule with high free-radical-scavenging properties (Ahn et al. 2007; Coşkun and İnci 2020; Huang et al. 2014). In cancer cells, it inhibits hyperproliferation by arresting the cell cycle at the G1/S phase and directly activates the mitochondrial apoptotic pathway by modulating the expression of the mutant p53 gene (Altabbal et al. 2023; Yıldız and Ünal 2022). In vitro

studies have demonstrated that quercetin suppresses angiogenic processes at the cellular level and reduces metastatic invasion potential across various cancer cell lines, such as colon and breast cancer (Forma and Bryś 2021; Hossain et al. 2022).

6.3. Galangin

Galangin is another major flavonoid compound found in high concentrations, particularly in propolis extracts derived from poplar trees, and which is notable for its anti-cancer properties (Coşkun and İnci 2020; Yıldız and Ünal 2022). By downregulating the expression of matrix metalloproteinases that play a key role in carcinogenesis at the cellular level, it significantly inhibits the tissue invasion capability of tumor cells (Hossain et al. 2022; Patel 2016). Simultaneously, by finely modulating intracellular ROS levels and activating the caspase cascade, it triggers targeted cell death mechanisms in carcinomatous tissues (Altabbal et al. 2023; Coşkun and İnci 2020; Yıldız and Ünal 2022).

6.4. Pinocembrin

Pinocembrin, one of the primary constituents of propolis, exhibits promising pharmacological effects within the tumor microenvironment alongside its potent systemic antioxidant and neuroprotective properties (Bayram et al. 2015; Coşkun and İnci 2020). Pinocembrin shifts the Bax/Bcl-2 ratio towards a pro-apoptotic state by reducing the cellular levels of anti-apoptotic proteins in malignant cells, and by causing mitochondrial dysfunction, it drives cancer cells into irreversible apoptosis (Forma and Bryś 2021; Hossain et al. 2022; Yıldız and Ünal 2022). In particular, the inhibition of signaling pathways vital for the survival of cancer cells, such as PI3K/Akt/mTOR, constitutes the primary foundation of its carcinostatic effects (Altabbal et al. 2023; Hossain et al. 2022; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022).

6.3. Molecular Targets of Polyphenolic Compounds of Propolis

The *in vitro* and *in vivo* oncological success of propolis-derived polyphenolic compounds stems from their ability to simultaneously act on multiple molecular targets rather than a single receptor (Hossain et al. 2022; Patel 2016). Cellular targets of these functional bioactive molecules include cell cycle regulators, apoptotic cascade proteins, inflammatory mediators, and angiogenic growth factors (VEGF) (Altabbal et al. 2023; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022; Yıldız and Ünal 2022).

Their capability to simultaneously modulate multiple signaling pathways against the multifactorial nature of cancer renders propolis polyphenols ideal chemopreventive agents for overcoming multidrug resistance (MDR) and alleviating the systemic toxicity of conventional therapies (Coşkun and İnci 2020; Hossain et al. 2022; Yıldız and Ünal 2022).

7. CELL CULTURE VE *IN VITRO* STUDIES

7.1. Cell Lines Used (e.g. MCF-7, HeLa etc.)

In *in vitro* oncology research, standard cell culture models are widely preferred to evaluate the anticancer potential of propolis extracts and specific polyphenolic components isolated from these extracts (Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022; Yıldız and Ünal 2022). Among the malignant cell lines most frequently preferred in these studies are human breast adenocarcinoma (MCF-7 and MDA-MB-231), cervical cancer (HeLa), colon carcinoma (HCT-116 and HT-29), and prostate cancer (PC-3) cells (Bayram et al. 2015; Hossain et al. 2022; Patel 2016). These immortalized cell lines provide an ideal in vitro microenvironment to map the molecular effects of propolis on

specific cancer types at the cellular level and to test therapeutic strategies (Coşkun and İnci 2020; Yıldız and Ünal 2022).

7.2. Cytotoxicity Analyses (MTT, IC_{50})

MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assays, which are essentially based on a colour change method, are used to quantitatively measure the cytotoxic and anti-proliferative effects of propolis on cancer cells (Hossain et al. 2022; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). These biochemical tests determine cell viability by measuring the mitochondrial dehydrogenase enzyme activity of living cells (Altabbal et al. 2023; Yıldız and Ünal 2022) Using the dose-response curves obtained from the experiments, the specific concentration of propolis extract or polyphenol required to kill 50% of the target cell population (IC_{50} value) is precisely calculated, definitively establishing the compound's oncological potency and ideal therapeutic dose range (Altabbal et al. 2023; Hossain et al. 2022; Patel 2016).

7.3. Gene Expression Analyses (RT-qPCR)

RT-qPCR (Real-Time Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) analysis is an essential method in molecular biology to understand how propolis suppresses oncogenes and activates tumor suppressor genes at the genetic level (Altabbal et al. 2023; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). Owing to this sensitive molecular technique, real-time changes in the mRNA expression levels of apoptotic genes, cell cycle regulatory genes, and inflammatory signaling genes in propolis-treated cancer cells are numerically quantified (Coşkun and İnci 2020; Forma and Bryś 2021; Huang et al. 2014; Yıldız and Ünal 2022). The resulting genetic data clearly demonstrate how propolis modulates cellular transcriptional mechanisms at the DNA level (Hossain et al. 2022; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022).

7.4. Protein Level Analyses (ELISA, Western blot)

Western blot and ELISA techniques are actively employed to verify whether the changes observed at the mRNA level in gene expression translate into functional downstream protein synthesis (Patel 2016; Yıldız and Ünal 2022). Western blot analyses reveal the abundance and structural changes of intracellular target proteins such as Bcl-2, pro-caspases, active caspase forms, and cyclins following propolis exposure (Altabbal et al. 2023; Hossain et al. 2022). ELISA assays, on the other hand, quantitatively measure the levels of extracellularly secreted pro-inflammatory cytokines (IL-6, TNF-α) and angiogenic growth factors (VEGF) with high sensitivity (Altabbal et al. 2023; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). These biochemical analyses at the protein level definitively demonstrate how propolis polyphenols biochemically intervene in intracellular signaling pathways (Altabbal et al. 2023; Coşkun and İnci 2020; Huang et al. 2014; Yıldız and Ünal 2022).

8. *IN VIVO* AND CLINICAL STUDIES

8.1. Animal Models

The successful results obtained in cell culture (*in vitro*) studies have been transferred to *in vivo* animal models in order to evaluate the anticancer efficacy of propolis within a complete and complex physiological system. (Patel 2016; Yıldız and Ünal 2022). In xenograft and chemically induced carcinogenesis models widely used in preclinical oncology research, propolis extracts have been proven to reduce tumor volume and mass to a statistically significant extent (Altabbal et al. 2023; Hossain et al. 2022). *In vivo* experiments utilizing isolated polyphenols, particularly caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and quercetin, demonstrate that they slow metastatic spread by suppressing angiogenesis around tumor tissue (Oršolić and Jazvinšćak

Jembrek 2022; Yıldız and Ünal 2022). Furthermore, animal models have clearly revealed that when combined with conventional chemotherapeutics, propolis exerts a synergistic effect, accelerating tumor regression while simultaneously markedly preventing systemic toxicity induced by synthetic drugs in rodents (Bayram et al. 2015; Coşkun and İnci 2020).

8.2. Clinical Potential and Limitations

Despite propolis's outstanding chemopreventive and adjuvant efficacy in *in vitro* and *in vivo* models, there are still only a limited number of large-scale, randomised, placebo-controlled clinical phase trials directly involving cancer patients (Coşkun and İnci 2020; Yıldız and Ünal 2022). Current clinical findings focus predominantly on the capacity of propolis to alleviate the debilitating side effects of conventional oncological treatments (Altabbal et al. 2023; Hossain et al. 2022). Propolis-based mouthwashes provide a highly valuable clinical nutritional support, particularly in the management of severe oral mucositis, dysphagia and taste disorders that directly prevent oral food intake in patients undergoing radiotherapy and chemotherapy (Bayram et al. 2015; Patel 2016). The clinical potential of propolis is remarkably high in terms of healing intraoral lesions, sustaining oral enteral nutrition, and preventing cancer-related cachexia (Coşkun and İnci 2020; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). However, major scientific limitations hinder the prescription of this bioactive mixture as a standardized pharmaceutical product in modern oncology (Patel 2016; Yıldız and Ünal 2022). The primary pharmacological hurdles include: variations in its chemical composition depending on geographical and botanical origin, low bioavailability of bioactive polyphenols in the gastrointestinal tract following oral intake, bio-interactions with complex food matrices, and their rapid metabolic clearance from systemic circulation (Coşkun and İnci 2020; Hossain et al. 2022; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022; Yıldız and Ünal

2022). Developing nanocarrier systems, such as liposomes and polymeric nanoparticles, to overcome these pharmacokinetic limitations constitutes the primary focus of modern pharmaceutical research (Coşkun and İnci 2020; Yıldız and Ünal 2022).

9. TOXICITY AND SAFETY

9.1. Dose-Dependent Effects

Although propolis and polyphenolic components isolated from its extracts are generally recognized as biocompatible natural agents with a low toxicity profile, their biological activities and cellular effects strictly exhibit dose dependency (Coşkun and İnci 2020; Yıldız and Ünal 2022). While the optimal daily propolis intake varies depending on the extract type and the patient's clinical status, in general preventive oral supplementation protocols for adults, the safe daily dose is determined as 300–500 mg per day, whereas in calculations per body weight, it is recommended within the range of 1–5 mg/kg. If calculation on a body weight/day basis is preferred, it is suggested to be calculated from approximately 70 mg/day (Eren and Besler 2025; Hossain et al. 2022; Patel 2016; Yıldız and Ünal 2022). In *in vitro* oncological studies, these specific optimal therapeutic dose ranges (IC_{50} values) induce selective apoptosis in malignant tumour cells without reducing viability (Altabbal et al. 2023; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). However, administering extracted bioactive components at very high doses exceeding the pharmacological threshold established as above 1000 mg per day can assume a pro-oxidant character at the cellular level, leading to genotoxic damage and non-specific cytotoxicity in healthy tissues (Ahn et al. 2007; Hossain et al. 2022). Therefore, determining standardized, safe dosage protocols for the chemopreventive or adjuvant use of propolis in

oncological applications is of utmost importance (Coşkun and İnci 2020; Patel 2016).

9.2. Side Effects

In clinical and preclinical applications, the most frequently reported pharmacological side effect requiring caution associated with propolis exposure is dermatological and immunological allergic reactions developing in individuals genetically predisposed to bee products or specific plant pollens (Hossain et al. 2022; Mehmetoğlu et al. 2017). Caffeic acid derivatives and cinnamic acid esters, present predominantly in the resinous structure of propolis, can function as potent contact allergens. In sensitized patients, this can lead to local contact dermatitis, oral mucosal irritation, erythema, and systemic hypersensitivity reactions that can rarely progress to anaphylaxis (Coşkun and İnci 2020; Mehmetoğlu et al. 2017; Yıldız and Ünal 2022).

Aside from these, no major organ toxicity associated with propolis within standard dosage ranges has been reported. On the contrary, it is highlighted that it alleviates systemic side effects and organ damage induced by conventional oncological drugs at the biochemical level (Bayram et al. 2015; Hossain et al. 2022). Nonetheless, particularly in concurrent use with aggressive chemotherapeutic agents metabolized in the liver, close monitoring of potential pharmacokinetic drug–natural product interactions that may develop via cytochrome P450 enzyme activity is recommended at both the cellular and clinical levels (Coşkun and İnci 2020; Patel 2016; Yıldız and Ünal 2022).

10. CONCLUSION AND FUTURE PERSPECTIVES

When comprehensive *in vitro* and *in vivo* literature data are evaluated together, it is clearly evident that propolis and the

major bioactive polyphenolic compounds contained within its structure, such as CAPE, quercetin, galangin, and pinocembrin, possess tremendous chemopreventive and therapeutic potential in the field of oncology (Patel 2016; Yıldız and Ünal 2022). Their ability to simultaneously modulate multiple signaling pathways against the multifactorial nature of cancer rather than acting on a single molecular target distinctly differentiates them from conventional drugs (Altabbal et al. 2023; Hossain et al. 2022; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022). Specifically targeting malignant cells without inducing toxicity in healthy tissues and providing synergistic support to therapy by alleviating the debilitating side effects of standard chemotherapy and radiotherapy protocols through their systemic antioxidant capacity constitute the greatest biological strength of propolis in oncological treatment (Bayram et al. 2015; Coşkun and İnci 2020; Hossain et al. 2022).

Translating the promising cellular achievements of propolis obtained in preclinical models into standard clinical oncology practices is directly dependent on innovative advancements in pharmaceutical technology and dietetics (Coşkun and İnci 2020; Yıldız and Ünal 2022). Developing targeted drug delivery systems such as liposomes, micelles, and polymeric nanoparticles to overcome major pharmacokinetic disadvantages of bioactive polyphenols—such as low water solubility, poor oral bioavailability, and rapid metabolism—lies at the center of modern pharmaceutical research(Coşkun and İnci 2020; Oršolić and Jazvinšćak Jembrek 2022; Ozdal et al. 2019). Making these standardized formulations, whose stability and absorption have been enhanced via nanotechnological methods, integratable into clinical nutrition solutions or personalized oncological diet protocols as a functional food component is of critical importance for providing safe and effective nutritional support in cancer patients (Altabbal et al. 2023; Hossain et al.

2022; Irigoiti et al. 2021). Furthermore, establishing internationally accepted pharmacological standardization and quality control protocols to resolve the variability in the chemical composition of propolis extracts obtained from different geographic and botanical origins is an absolute necessity (Hossain et al. 2022; Yıldız and Ünal 2022).

Future oncological research should primarily focus on translating the cellularly demonstrated effects of propolis into large-scale, double-blind, placebo-controlled, and randomized clinical phase trials to map its definitive efficacy in human physiology, dose-response profile, and long-term safety (Coşkun and İnci 2020; Patel 2016). In particular, determining the primary standardization parameters of local ecotypes with an exceptionally rich phenolic compound distribution and high antioxidant/cytotoxic capacity, such as Turkish propolis, will provide strategic contributions to establishing national and international clinical protocols (Ozdal et al. 2019; Özkök et al. 2021). How specific polyphenol components cross-interact with immune cells and immune checkpoints in the tumor microenvironment must be investigated at the molecular level in much greater depth (Bayram et al. 2015; Yıldız and Ünal 2022). In addition to all these, determining which specific conventional cancer therapeutics standardized major propolis fractions create the highest synergistic effect with, and ensuring the safe integration of these bioactive molecules into personalized oncology protocols, will rank among the paramount goals of multidisciplinary oncology science (Altabbal et al. 2023; Coşkun and İnci 2020; Hossain et al. 2022).

REFERENCES

Ahn, Mok Ryeon, Shigenori Kumazawa, Yumiko Usui, Jun Nakamura, Mitsuo Matsuka, Fang Zhu, and Tsutomu Nakayama. 2007. "Antioxidant Activity and Constituents of Propolis Collected in Various Areas of China." *Food Chemistry* 101(4):1383–92. doi:10.1016/j.foodchem.2006.03.045.

Albayrak, Songül, and Sevil Albayrak. 2008. "Propolis: Doğal Antimikrobiyal Madde." *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi* 37(3):201–15.

Almuhayawi, Mohammed Saad. 2020. "Propolis as a Novel Antibacterial Agent." *Saudi Journal of Biological Sciences* 27(11):3079–86.

Altabbal, Suhib, Khawla Athamnah, Aaesha Rahma, Adil Farooq Wali, Ali H. Eid, Rabah Iratni, and Yusra Al Dhaheri. 2023. "Propolis: A Detailed Insight of Its Anticancer Molecular Mechanisms." *Pharmaceuticals* 16(3).

Anjum, Syed Ishtiaq, Amjad Ullah, Khalid Ali Khan, Mohammad Attaullah, Hikmatullah Khan, Hussain Ali, Muhammad Amjad Bashir, Muhammad Tahir, Mohammad Javed Ansari, Hamed A. Ghramh, Nuru Adgaba, and Chandra Kanta Dash. 2019. "Composition and Functional Properties of Propolis (Bee Glue): A Review." *Saudi Journal of Biological Sciences* 26(7):1695–1703.

Araba, Semra, and Haluk Özparlak. 2022. "Propolis." *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi* 48(1):1–9. doi:10.35238/sufefd.1068425.

Armutcu, Ferah, Sumeyya Akyol, Seyfettin Ustunsoy, and Fatime Filiz Turan. 2015. "Therapeutic Potential of Caffeic Acid Phenethyl Ester and Its Anti-Inflammatory and Immunomodulatory Effects (Review)." *Experimental*

and Therapeutic Medicine 9(5):1582–88. doi:10.3892/etm.2015.2346.

Bayram, Recep, Selim Benek, Muhsine Zeynep Yavuz, Ümmügülsüm Benek, Kenan Gümüştekin, and Ertuğrul Kaya. 2015. *Propolis Tıbbi Tedaviye Destek Olabilir Mi? Can Propolis Support Medical Treatment?* Vol. 1. www.eurjhs.com.

Böke Sarıkahya, Nazlı, Ahmet C. Gören, Gaye Sümer Okkalı, Furkan Ozan Çöven, Batuhan Orman, Damla Kırcı, Banu Yücel, Duygu Kışla, Betül Demirci, Mehmet Altun, Ayşe Nur Önem, and Ayşe Nalbantsoy. 2021. "Chemical Composition and Biological Activities of Propolis Samples from Different Geographical Regions of Turkey." *Phytochemistry Letters* 44:129–36. doi:10.1016/j.phytol.2021.06.008.

Çalışkol Maden, Menşure. 2013. "Azerbaycan Yöresine Ait Propolis Örneklerinin Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi)."

Campoccia, Davide, Stefano Ravaioli, Spartaco Santi, Valentina Mariani, Cristina Santarcangelo, Anna De Filippis, Lucio Montanaro, Carla Renata Arciola, and Maria Daglia. 2021. "Exploring the Anticancer Effects of Standardized Extracts of Poplar-Type Propolis: In Vitro Cytotoxicity toward Cancer and Normal Cell Lines." *Biomedicine and Pharmacotherapy* 141. doi:10.1016/j.biopha.2021.111895.

Coşkun, Pınar, and Hakan İnci. 2020. "Propolisin Kimyasal İçeriği Ile Antibakteriyel, Antiviral ve Antioksidan Aktivitesi." *ISPEC Journal of Agricultural Sciences* 4(4):1053–70. doi:10.46291/ISPECJASvol4iss4pp1051-1068.

Cui, Jing, Xueqin Duan, Liting Ke, Xingxue Pan, Jia Liu, Xiaoping Song, Wuren Ma, Weimin Zhang, Yingqiu Liu, and Yunpeng Fan. 2022. "Extraction, Purification, Structural Character and Biological Properties of Propolis Flavonoids: A Review." *Fitoterapia* 157.

Demir, Ceren. 2022. "Propolis ve Polen İçeriği Etken Bileşiklerin Crohn Hastalığı Üzerinde Etkilerinin Araştırılması Yüksek Lisans Tezi."

Doğan, Nazime Mercan, Farid Nasirli, Naime Nur Bozbeyoğlu Kart, and Volkan Kuzucu. 2022. "Propolisin Antikanser Aktivitesine Genel Bir Bakış." *Bartın University International Journal of Natural and Applied Sciences*. doi:10.55930/jonas.1190050.

Eren, Dilara, and Halit Tanju Besler. 2025. "Fonksiyonel Bir Gıda Olan Propolisin Beslenme ve Sağlık Üzerine Etkileri." *Anadolu Bil Meslek Yüksekokulu Dergisi* 20(72):125–40. doi:10.17932/iau.abmyod.2006.005/abmyod_v20i72002.

Ertürk, Ömer, and Nihal Güler. 2013. The Historical Uses Of Propolis In Folk Medicine, With Its Biologıcal Acitivites And Chemical Composition. Vol. 13. http://natural-propolis.blogspot.com.

Forma, Ewa, and Magdalena Bryś. 2021. "Anticancer Activity of Propolis and Its Compounds." *Nutrients* 13(8).

Hossain, Rajib, Cristina Quispe, Rasel Ahmed Khan, Abu Saim Mohammad Saikat, Pranta Ray, Damira Ongalbek, Balakyz Yeskaliyeva, Divya Jain, Antonella Smeriglio, Domenico Trombetta, Roghayeh Kiani, Farzad Kobarfard, Naheed Mojgani, Parvaneh Saffarian, Seyed Abdulmajid Ayatollahi, Chandan Sarkar, Mohammad

Torequl Islam, Dılhun Keriman, Arserim Uçar, Miquel Martorell, Antoni Sureda, Gianfranco Pintus, Monica Butnariu, Javad Sharifi-Rad, and William C. Cho. 2022. "Propolis: An Update on Its Chemistry and Pharmacological Applications." *Chinese Medicine (United Kingdom)* 17(1).

Huang, Shuai, Cui Ping Zhang, Kai Wang, George Q. Li, and Fu Liang Hu. 2014. "Recent Advances in the Chemical Composition of Propolis." *Molecules* 19(12):19610–32.

Ibrahim, Marwa Ezz El Din, and Randah Miqbil Alqurashi. 2022. "Anti-Fungal and Antioxidant Properties of Propolis (Bee Glue) Extracts." *International Journal of Food Microbiology* 361. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109463.

Irigoiti, Yanet, Alba Navarro, Diego Yamul, Carina Libonatti, Anahi Tabera, and Marina Basualdo. 2021. "The Use of Propolis as a Functional Food Ingredient: A Review." *Trends in Food Science and Technology* 115:297–306.

Keskin, Saban, Levent Yatanaslan, and Semiramis Karlidag. 2020. "Chemical Characterization of Propolis Samples Collected from Different Provinces of Anatolia." *Uludag Aricilik Dergisi* 20(1):81–88. doi:10.31467/ULUARICILIK.714317.

Mehmetoğlu, Serdar, Zekai Tarakçi, Melike Demirkol, Neslihan Çakici, and Fazıl Güney. 2017. "Gıda Katkı Maddesi Olarak Propolis." *Arıcılık Araştırma Dergisi* 32–39.

Memmedov, Hikmet, Ozan Aldemir, and Elvin Aliyev. 2017. "Propolisin Antioksidan ve Antiinflamatuvar Etkisi." *Arıcılık Araştırma Dergisi* (2):56–62.

Memmedov, Hikmet, Ozan Aldemir, and Elvin Aliyev. 2018. "Propolisin Antikanser Etkisi." *Arıcılık Araştırma Dergisi* 20–27.

Mizuno, Sayaka, Ryo Miyata, Kazuma Mukaide, Sari Honda, Agus Sukito, Muhamad Sahlan, Tohru Taniguchi, and Shigenori Kumazawa. 2022. "New Compound from the Plant Origin of Propolis from Lombok, Indonesia and Its Antibacterial Activity." *Results in Chemistry* 4. doi:10.1016/j.rechem.2021.100276.

Murtaza, Ghulam, Sabiha Karim, Muhammad Rouf Akram, Shujaat Ali Khan, Saira Azhar, Amara Mumtaz, and Muhammad Hassham Hassan Bin Asad. 2014. "Caffeic Acid Phenethyl Ester and Therapeutic Potentials." *BioMed Research International* 2014.

Onur, Elif, Gökhan Gurur Gökmen, Ayşe Nalbantsoy, and Duygu Kışla. 2022. "Investigation of the Supportive Therapy Potential of Propolis Extract and Lactobacillus Acidophilus LA-5 Milk Combination against Breast Cancer in Mice." *Cytokine* 149. doi:10.1016/j.cyto.2021.155743.

Onur, Elif, Ayşe Nalbantsoy, and Duygu Kışla. 2018. "Immunotherapy and Potential Use of Propolis in Cancer Immunotherapy." *Food and Health* 231–46. doi:10.3153/fh18023.

Oršolić, Nada, and Maja Jazvinšćak Jembrek. 2022. "Molecular and Cellular Mechanisms of Propolis and Its Polyphenolic Compounds against Cancer." *International Journal of Molecular Sciences* 23(18).

Ozdal, Tugba, Fatma Duygu Ceylan, Nazife Eroglu, Muammer Kaplan, Elmas Oktem Olgun, and Esra Capanoglu. 2019. "Investigation of Antioxidant Capacity,

Bioaccessibility and LC-MS/MS Phenolic Profile of Turkish Propolis." *Food Research International* 122:528–36. doi:10.1016/j.foodres.2019.05.028.

Özkök, Aslı, Merve Keskin, Aslı Elif Tanuğur Samancı, Elif Yorulmaz Önder, and Çiğdem Takma. 2021. "Determination of Antioxidant Activity and Phenolic Compounds for Basic Standardization of Turkish Propolis." *Applied Biological Chemistry* 64(1). doi:10.1186/s13765-021-00608-3.

Patel, Seema. 2016. "Emerging Adjuvant Therapy for Cancer: Propolis and Its Constituents." *Journal of Dietary Supplements* 13(3):245–68.

Pierański, Michał K., Damian Kaniowski, and Piotr Szweda. 2025. "Therapeutic Potential of Propolis in Preclinical Models of Cancer and Infectious Diseases: A Review." *International Journal of Molecular Sciences* 26(16).

Pilario, Karl Ezra, Alexander Tielemans, and Elmer Rico E. Mojica. 2022. "Geographical Discrimination of Propolis Using Dynamic Time Warping Kernel Principal Components Analysis." *Expert Systems with Applications* 187. doi:10.1016/j.eswa.2021.115938.

Pilario, Karl Ezra, Alexander Tielemans, and Elmer-Rico E. Mojica. 2021. "Geographical Discrimination of Propolis Using Dynamic Time Warping Kernel Principal Components Analysis." *Expert Systems with Applications*. https://www.elsevier.com/open-access/userlicense/1.0/.

Rushdi, Ahmed I., Nuru Adgaba, Noofal I. M Bayaqoob, Ahmed Al-Khazim, Bernd R. T Simoneit, Aarif H. El-Mubarak, and Khalid F. Al-Mutlaq. 2014. *Characteristics and*

Chemical Compositions of Propolis from Ethiopia. http://www.springerplus.com/content/3/1/253.

Salleh, Sharifah Nur Amalina Syed, Nur Ayuni Mohd Hanapiah, Wan Lutfi Wan Johari, Hafandi Ahmad, and Nurul Huda Osman. 2021. "Analysis of Bioactive Compounds and Chemical Composition of Malaysian Stingless Bee Propolis Water Extracts." *Saudi Journal of Biological Sciences* 28(12):6705–10. doi:10.1016/j.sjbs.2021.07.049.

Shehata, Mohamed G., Fauziah T. Ahmad, Ahmed N. Badr, Saad H. Masry, and Sobhy A. El-Sohaimy. 2020. "Chemical Analysis, Antioxidant, Cytotoxic and Antimicrobial Properties of Propolis from Different Geographic Regions." *Annals of Agricultural Sciences* 65(2):209–17. doi:10.1016/j.aoas.2020.12.001.

Singla, Neelam, Piyush Mittal, M. Arockia Babu, Soumya V Menon, Subhashree Ray, Haider Ali, Manish Purohit, Kavita Goyal, Rakhi Mishra, Md Sadique Hussain, Arcot Rekha, and Gaurav Gupta. 2025. "Pinocembrin as a Novel Anti-Cancer Agent: Exploring Preclinical Evidence along with Therapeutic Potential." *World Journal of Experimental Medicine* 15(4). doi:10.5493/wjem.v15.i4.110482.

Song, Meijie, Kai Wang, Huanxian Lu, Sha Yan, Liming Wu, and Xiaofeng Xue. 2021. "Composition and Distribution of α-Dicarbonyl Compounds in Propolis from Different Plant Origins and Extraction Processing." *Journal of Food Composition and Analysis* 104. doi:10.1016/j.jfca.2021.104141.

Szliszka, Ewelina, and Wojciech Krol. 2013. "Polyphenols Isolated from Propolis Augment TRAIL-Induced

Apoptosis in Cancer Cells." *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2013.

Tarım ve Orman Bakanlığı, T. C. 2024. Türk Gıda Kodeksi Arı Ürünleri Tebliği *(Tebliğ No: 2024/6)*.

Tuli, Hardeep Singh, Katrin Sak, Shubham Adhikary, Ginpreet Kaur, Diwakar Aggarwal, Jagjit Kaur, Manoj Kumar, Nidarshana Chaturvedi Parashar, Gaurav Parashar, Uttam Sharma, and Aklank Jain. 2022. "Galangin: A Metabolite That Suppresses Anti-Neoplastic Activities through Modulation of Oncogenic Targets." *Experimental Biology and Medicine* 247(4):345–59.

Ünal, Mustafa, Onur Öztürk, Mustafa Yasin Selçuk, and Muhammet Ali Oruç. 2020. "Propolis- Literatür Ne Diyor?" *Bozok Tıp Dergisi*. doi:10.16919/bozoktip.594786.

Vadillo-Rodríguez, Virginia, Marco Alejandro Cavagnola, Ciro Pérez-Giraldo, and María Coronada Fernández-Calderón. 2021. "A Physico-Chemical Study of the Interaction of Ethanolic Extracts of Propolis with Bacterial Cells." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 200. doi:10.1016/j.colsurfb.2021.111571.

Vică, Mihaela Laura, Mirel Glevitzky, Delia Mirela Tit, Tapan Behl, Ramona Cristina Heghedűş-Mîndru, Dana Carmen Zaha, Francesca Ursu, Maria Popa, Ioana Glevitzky, and Simona Bungău. 2021. "The Antimicrobial Activity of Honey and Propolis Extracts from the Central Region of Romania." *Food Bioscience* 41. doi:10.1016/j.fbio.2021.101014.

Yıldız, Beyza Merve, and Fatma Ünal. 2022. "Propolisin Kimyasal Bileşimi ve Biyolojik Etkileri." *Gazi*

Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi 14–32. http://sci-fac-j.gazi.edu.tr/.

TIBBİ BİYOKİMYA ALANINDA

GÜNCEL KONULAR VE

AKADEMİK DEĞERLENDİRMELER

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