

BİDGE Yayınları

YENİ HİSTOLOJİK VE HİSTOPATOLOJİK ÇALIŞMALAR

Editör: HİKMET YETER ÇOĞUN

ISBN: 978-625-372-779-6

1. Baskı

Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL

Yayınlama Tarihi: 2025-06-25

BİDGE Yayınları

Bu eserin bütün hakları saklıdır. Kaynak gösterilerek tanıtım için yapılacak kısa alıntılar dışında yayıncının ve editörün yazılı izni olmaksızın hiçbir yolla çoğaltılamaz.

Sertifika No: 71374

Yayın hakları © BİDGE Yayınları

www.bidgeyayinlari.com.tr - bidgeyayinlari@gmail.com

Krc Bilişim Ticaret ve Organizasyon Ltd. Şti.

Güzeltepe Mahallesi Abidin Daver Sokak Sefer Apartmanı No: 7/9 Çankaya /
Ankara



İÇİNDEKİLER

HÜCRE ZARI VE RESEPTÖR GENETİĞİ MOLEKÜLER YAPILAR VE GENETİK REGÜLASYON	1
--	---

FATMA ÇELENK

HİSTOGENETİK: HÜCRE VE DOKU GELİŞİMİNİN GENETİK TEMELLERİ	19
--	----

FATMA ÇELENK

APOPTOZİS VE EMBRİYOLOJİDEKİ ÖNEMİ	29
--	----

MUHAMMED KASIM AYDIN, FATMA ÇELENK, MUZAFFER AYDIN KETANİ

BÖLÜM 1

HÜCRE ZARI VE RESEPTÖR GENETİĞİ: MOLEKÜLER YAPILAR VE GENETİK REGÜLASYON

1.Yazar Adı-(Fatma ÇELENK)¹

1. Giriş: Hücre Zarına Genetik Bir Bakış

Canlı sistemlerin temel birimi olan hücreler, yaşamın devamlılığı için hayati fonksiyonları yerine getiren karmaşık yapılar bütünüdür. Bu yapıların merkezinde yer alan **hücre zarı**, hücre içi ortamı dış dünyadan ayıran ve aynı zamanda hücreler arası iletişimi sağlayan dinamik bir bariyer görevi görür. Hücre zarı sadece bir sınırlandırma değil, aynı zamanda dış ortamdan gelen sinyallerin algılanması, besin maddelerinin alınması, atık maddelerin uzaklaştırılması ve hücre kimliğinin belirlenmesi gibi kritik biyolojik süreçlerde aktif rol oynayan karmaşık bir yapıdır (Alberts vd., 2017). Bu bölüm, hücre zarının biyolojik önemini vurgulayarak, zar proteinlerinin genetik kodlanması ve reseptör genetiğinin temel prensipleri üzerine odaklanacaktır.

Hücre Zarının Biyolojik Önemi

Hücre zarı, seçici geçirgenliği sayesinde hücrenin homeostazisini sürdürmesini sağlar. Bu özellik, hücre içine sadece gerekli maddelerin alınmasına ve zararlı maddelerin dışarıda tutulmasına olanak tanır. Ayrıca, hücre zarı üzerinde bulunan özelleşmiş moleküler yapılar, hücrelerin birbirlerini tanımasını, doku oluşumunu ve bağışıklık sistemi tepkilerini düzenler. Örneğin, patojen tanıma, hücre adezyonu ve hücre-hücre sinyalizasyonu gibi süreçler, zar yüzeyindeki moleküller aracılığıyla gerçekleşir (Cooper, 2000). Zar bütünlüğünün bozulması veya fonksiyon bozuklukları, çeşitli hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynar; bu da zarın organizma sağlığı için ne kadar merkezi bir konumda olduğunu göstermektedir.

Zar Proteinlerinin Genetik Olarak Kodlanması

Hücre zarının dinamik yapısı ve geniş fonksiyonel yelpazesi, büyük ölçüde zar proteinlerinin çeşitliliğine ve özgüllüğüne bağlıdır. Bu proteinler, iyon kanallarından taşıyıcılara, enzimlerden reseptörlere kadar çok sayıda farklı görevi üstlenir. Zar proteinlerinin sentezi, **genetik olarak kodlanmış** talimatlar doğrultusunda gerçekleşir. Her bir zar proteini, spesifik bir gen tarafından kodlanır ve bu genin nükleotit dizilimi, proteinin amino asit dizisini belirler. Bu dizilim, proteinin üç boyutlu yapısını, membrana yerleşim şeklini ve dolayısıyla fonksiyonunu doğrudan etkiler. Örneğin, hidrofobik amino asitlerden oluşan transmembran

¹ Dr, Diyarbakır Tarım ve Orman İl Müdürlüğü, Gıda ve Yem Şube Müdürlüğü, Orcid: 0000-0002-9677-8372

bölgeler, proteinin lipid çift tabakasına entegrasyonu için kritik öneme sahiptir ve bu bölgelerin kodlandığı gen bölgeleri yüksek oranda korunmuştur (Lodish vd., 2016). Genetik kodlamadaki herhangi bir değişiklik (mutasyon), proteinin yapısını ve fonksiyonunu bozarak hücresel işlev bozukluklarına ve hastalıklara yol açabilir.

Reseptör Genetiğinin Temel Prensipleri

Reseptörler, hücre zarında veya hücre içinde bulunan ve belirli sinyal moleküllerine (ligandlara) özgül olarak bağlanarak hücrede bir yanıt zincirini başlatan proteinlerdir. Reseptör genetiği, bu reseptör proteinlerini kodlayan genlerin yapısını, ekspresyonunu, regülasyonunu ve varyasyonlarını inceleyen bir alandır. Her bir reseptör tipinin kendine özgü bir genetik kodlaması vardır ve bu genlerin ekspresyon düzeyleri, hücre tipine, gelişim evresine ve dışsal uyaranlara göre hassas bir şekilde düzenlenir. Örneğin, G-protein bağlı reseptörler (GPCR'ler) veya tirozin kinaz reseptörleri gibi farklı reseptör sınıfları, hücre içi sinyal iletiminde kritik roller oynar ve bunların genetik varyasyonları veya mutasyonları, birçok hastalığın (kanser, nörodejeneratif hastalıklar, metabolik bozukluklar vb.) gelişimine katkıda bulunabilir (Katrithch vd., 2013). Reseptör genlerindeki polimorfizmler, bireylerin ilaçlara verdiği yanıtları veya hastalıklara karşı duyarlılıklarını etkileyebilir; bu da reseptör genetiği çalışmalarının farmakogenomik ve kişiselleştirilmiş tıp açısından önemini ortaya koymaktadır. Bu makalenin devamında, hücre zarı ve reseptörlerin moleküler yapısından genetik regülasyonlarına, sinyal iletim mekanizmalarından deneysel inceleme yöntemlerine kadar geniş bir yelpazede detaylı bilgiler sunulacaktır.

2. Hücre Zarının Moleküler Yapısı

Hücre zarı, hücrenin en dış sınırını oluşturan ve yaşamsal faaliyetler için kritik öneme sahip dinamik bir yapıdır. Bu zarın temel mimarisi, fluid mozaik model (Singer & Nicolson, 1972) ile açıklanır ve büyük ölçüde lipidler, proteinler ve karbonhidratlardan oluşur. Bu bileşenlerin özgül düzenlenmesi, zarın seçici geçirgenlik, sinyal iletimi ve hücreler arası etkileşim gibi fonksiyonlarını yerine getirmesini sağlar.

Fosfolipit Çift Tabakası: Yapı, Asimetrik Dağılım

Hücre zarının temel iskeletini, **fosfolipit çift tabakası** oluşturur. Her bir fosfolipit molekülü, hidrofilik (su seven) bir baş kısmı ve hidrofobik (su sevmeyen) iki yağ asidi kuyruğundan oluşur. Bu amfipatik yapıları sayesinde fosfolipitler, sulu ortamda kendiliğinden çift tabaka şeklinde organize olurlar; hidrofilik başlar dış ortama ve sitoplazmaya dönükken, hidrofobik kuyruklar tabakanın iç kısmında birbirine bakar. Bu düzenleme, zarı birçok polar molekül ve iyon karşı geçirimsiz hale getirerek hücre içi ortamın korunmasına yardımcı olur (Lodish vd, 2016).

Fosfolipit çift tabakası **asimetrik bir dağılım** gösterir. İç ve dış yaprakçıkların fosfolipit bileşimi farklılık gösterir. Örneğin, fosfatidilserin ve fosfatidilinositol gibi fosfolipitler genellikle iç yaprakçıkta (sitoplazmik yüz) bulunurken, fosfatidilkolin ve sfingomyelin dış yaprakçıkta (ekstraselüler yüz) daha yoğun olarak yer alır (Cooper, 2000). Bu asimetri, hücre sinyalizasyonunda ve apoptoz gibi süreçlerde önemli rol oynar. Örneğin, apoptozda

fosfatidilserinin dış yüzeye translokasyonu, makrofajlar tarafından hücrenin tanınmasını ve fagositozunu tetikler.

Zar Proteinleri: İntegral ve Periferal Proteinlerin Yapısı

Hücre zarının fonksiyonel çeşitliliği büyük ölçüde zar proteinlerine bağlıdır. Bu proteinler, membrana yerleşim şekillerine göre iki ana kategoriye ayrılır:

- **İntegral Zar Proteinleri:** Lipid çift tabakasına sıkıca bağlı olan proteinlerdir. Bunlar genellikle hidrofobik etkileşimlerle membrana tutunurlar ve zardan tamamen geçen (transmembran proteinleri) veya sadece bir yüzeyine gömülü olan tipleri vardır. Transmembran proteinleri, genellikle alfa-heliks veya beta-fiçı yapıları şeklinde, hidrofobik amino asitlerden oluşan bölgelere sahiptirler ve bu bölgeler lipid çift tabakası içinde yer alır. Bu proteinler, iyon kanalları, taşıyıcılar, reseptörler ve enzimler gibi çeşitli işlevleri yerine getirirler (Alberts vd., 2017).
- **Periferal Zar Proteinleri:** Lipid çift tabakasına doğrudan bağlı olmayan, ancak integral proteinlere veya lipid baş gruplarına zayıf, kovalent olmayan bağlarla tutunan proteinlerdir. Genellikle zarın sitoplazmik yüzeyinde bulunurlar ve hücre iskeletiyle bağlantı kurma veya sinyal iletiminde görev alırlar. Deterjanlar veya yüksek tuz konsantrasyonları gibi daha hafif koşullarda zar üzerinden ayrılabilirler (Lodish vd., 2016).

Transmembran Bölgeler ve Genetik Kodlanması

İntegral zar proteinlerinin lipid çift tabakası içine gömülü olan kısımlarına **transmembran bölgeler** denir. Bu bölgeler, büyük ölçüde hidrofobik amino asitlerden oluşur ve proteinin membrana doğru şekilde yerleşmesi ve stabilize olması için kritik öneme sahiptir. Genetik olarak, bu hidrofobik bölgelerin dizisi, ilgili genin kodlayıcı bölgesinde özgül nükleotit dizileriyle belirlenir. Bu dizilerdeki herhangi bir mutasyon, proteinin transmembran bölgesinin yapısını bozarak membrandaki yerleşimini, stabilitesini veya fonksiyonunu olumsuz etkileyebilir. Örneğin, kistik fibroze neden olan CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) proteinindeki mutasyonlar, bir klorür kanalının membrana yanlış katlanmasına veya yerleşmemesine yol açarak hastalığın temelini oluşturur (Riordan vd., 1989).

Glikokaliks ve Hücre Tanıma

Hücre zarının dış yüzeyinde, özellikle hayvan hücrelerinde, **glikokaliks** adı verilen karbonhidrat bakımından zengin bir tabaka bulunur. Bu tabaka, zar proteinlerine (glikoproteinler) ve lipidlere (glikolipidler) kovalent olarak bağlı oligosakkarit zincirlerinden oluşur (Alberts vd., 2017). Glikokaliks, hücre-hücre tanıma, hücre adezyonu, immün yanıtlar ve hücrelerin yüzeyini koruma gibi birçok önemli fonksiyonda rol oynar. Örneğin, kan gruplarını belirleyen antijenler glikokaliks bileşenleridir ve bağışıklık sisteminin kendi hücrelerini yabancı hücrelerden ayırt etmesinde kritik bir rol oynar.

Sitoplazmik İskele Bağlantıları

Hücre zarı, hücrenin iç kısmındaki **sitoplazmik iskele** (sitoiskelet) ile dinamik bağlantılar kurar. Aktin filamentleri, mikrotübüller ve ara filamentler gibi sitoiskelet elemanları,

zar proteinleri aracılığıyla zarına bağlanır. Bu bağlantılar, hücrenin şeklini korumasını, hareket etmesini, organellerin yerleşimini ve endositoz/ekzositoz gibi zarı içeren süreçleri düzenlemesini sağlar (Lodish vd., 2016). Örneğin, eritrositlerde spektrin ve ankirin gibi proteinler, hücre zarını sitoskeletle bağlayarak hücrenin esnekliğini ve dayanıklılığını temin eder. Bu bağlantılardaki bozukluklar, bazı anemi türlerine yol açabilir.

3. Hücre Zarını Kodlayan Genler ve Transkripsiyonel Regülasyon

Hücre zarının karmaşık yapısı ve çok yönlü fonksiyonları, zar proteinlerinin ve lipidlerinin hassas bir şekilde düzenlenmiş sentezine bağlıdır. Bu sentezin temelini, ilgili genlerin **transkripsiyonel regülasyonu** oluşturur. Gen ifadesinin kontrolü, hücrenin çevresel değişikliklere uyum sağlamasına, gelişim süreçlerini yönetmesine ve özelleşmiş fonksiyonlarını yerine getirmesine olanak tanır.

Zar Proteinleri ve Taşıyıcıları (örn. Na⁺/K⁺ ATPaz, Aquaporin)

Hücre zarında bulunan binlerce farklı protein ve taşıyıcı molekül, hücrenin yaşam döngüsü ve fizyolojik süreçler için hayati öneme sahiptir. Bu proteinler, iyon dengesini sağlayan kanallardan, besin maddelerinin ve metabolitlerin taşınmasını sağlayan taşıyıcılara kadar geniş bir yelpazeyi kapsar.

- **Na⁺/K⁺ ATPaz (Sodyum-Potasyum Pompası):** Bu integral zar proteini, ATP hidrolizi enerjisini kullanarak sodyum iyonlarını hücre dışına, potasyum iyonlarını ise hücre içine aktif olarak pompalar. Bu işlem, elektrokimyasal gradyanların sürdürülmesi, hücre hacminin düzenlenmesi ve sinir impulslarının iletimi için kritiktir. Na⁺/K⁺ ATPaz, **ATP1A**, **ATP1B** ve **ATP1G** gen aileleri tarafından kodlanan farklı alt birimlerden oluşur ve bu genlerin ekspresyonu, hücrenin enerji durumu ve iyonik dengesi gibi faktörlere göre sıkı bir şekilde düzenlenir (Jørgensen vd., 2003).
- **Aquaporinler (AQP):** Su moleküllerinin hücre zarından hızlı ve seçici bir şekilde geçişini sağlayan transmembran kanallarıdır. Vücutta en az 13 farklı aquaporin tipi (AQP0-AQP12) tanımlanmıştır ve her birinin belirli dokularda özgül ekspresyon paternleri ve fizyolojik rolleri bulunur. Örneğin, AQP1 böbreklerde, AQP4 beyinde ve AQP5 akciğerlerde yoğun olarak bulunur. Aquaporin genlerinin ekspresyonu, hücrenin su dengesi ve ozmotik stres gibi durumlara yanıt olarak değişebilir (Agre, 2006).

Bu örnekler, zar proteinlerinin genetik kodlamasının ve ekspresyonunun hücre fonksiyonları için ne kadar temel olduğunu göstermektedir.

Gen Bölgeleri: Promotörler, İntron/Ekzon Yapısı

Hücre zarı proteinlerini kodlayan genler, tipik ökaryotik gen yapısına sahiptir:

- **Promotörler:** Genin transkripsiyonunun başladığı ve RNA polimerazın bağlandığı DNA bölgeleridir. Promotörler, gen ifadesinin düzeyini ve zamanlamasını kontrol eden çeşitli düzenleyici diziler (örn. TATA kutusu, GC kutusu) ve transkripsiyon faktörlerinin bağlanma bölgelerini içerir.

- **İntron/Ekzon Yapısı:** Ökaryotik genler, protein kodlayan **ekzonlar** ve kodlamayan **intronlar** olmak üzere iki tip diziden oluşur. Transkripsiyon sonrası, intronlar RNA'dan çıkarılır (splicing) ve ekzonlar birleşerek olgun mRNA'yı oluşturur. Bu intron/ekzon yapısı, **alternatif splicing** adı verilen bir mekanizma aracılığıyla tek bir genden farklı protein izoformlarının üretilmesine olanak tanır ve bu da zar proteinlerinin çeşitliliğine önemli katkı sağlar (Black, 2003).

Transkripsiyon Faktörlerinin Etkisi (örn. SP1, NF-κB)

Gen transkripsiyonunun düzenlenmesinde **transkripsiyon faktörleri**, promotör bölgelerdeki spesifik DNA dizilerine bağlanarak RNA polimerazın aktivitesini artıran (aktivatörler) veya azaltan (represörler) anahtar proteinlerdir.

- **SP1 (Specific Protein 1):** Bir çinko parmak transkripsiyon faktörüdür ve birçok housekeeping genin (hücresel temel fonksiyonlarını yürüten genler) ve ayrıca çeşitli zar proteinlerinin (örn. Na⁺/K⁺ ATPaz) promotör bölgelerindeki GC-zengin dizilere bağlanarak bazal transkripsiyonu aktive eder. Hücre büyümesi, farklılaşma ve apoptoz gibi süreçlerde önemli rolleri vardır (Safe & Kim, 2004).
- **NF-κB (Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells):** İnflamasyon, immün yanıt, hücre proliferasyonu ve apoptoz gibi birçok hücresel süreçte merkezi rol oynayan bir transkripsiyon faktörü kompleksidir. Hücre yüzeyindeki reseptörler (örn. Toll-like reseptörler) aracılığıyla aktive edildiğinde, NF-κB sitoplazmadan nükleusa transloke olur ve çeşitli sitokinler, kemokinler ve zarla ilişkili proteinlerin (örn. adezyon molekülleri) gen ekspresyonunu düzenler (Hayden & Ghosh, 2011).

Epigenetik Düzenleme: Metilasyon, Histon Modifikasyonları

Transkripsiyonel regülasyon sadece DNA dizisi ve transkripsiyon faktörleriyle sınırlı değildir; **epigenetik mekanizmalar** da gen ifadesinin kalıtsal olarak değiştirilmesinde önemli rol oynar. Bu değişiklikler DNA dizisini değiştirmeden gen aktivitesini etkiler.

- **DNA Metilasyonu:** Genellikle CpG adacıkları adı verilen bölgelerdeki sitozin bazlarına metil gruplarının eklenmesidir. Promotör bölgelerin metilasyonu, transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasını engelleyerek veya kromatin yapısını değiştirerek gen ifadesini baskılayabilir. Birçok zar proteinini kodlayan genin ekspresyonu, metilasyon profilleriyle ilişkilidir ve özellikle kanser gibi hastalıklarda bu metilasyon paternlerinde değişiklikler gözlenir (Ehrlich, 2002).
- **Histon Modifikasyonları:** DNA, nükleozomlar oluşturmak üzere histon proteinlerinin etrafına sarılır. Histonların asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon gibi çeşitli modifikasyonları, kromatinin kompaktlığını ve dolayısıyla genlere erişilebilirliği etkiler. Histon asetilasyonu genellikle gen aktivasyonunu artırırken (kromatinin gevşemesi), histon metilasyonu genin aktivasyonuna veya baskılanmasına yol açabilir (Jenuwein & Allis, 2001). Zar proteinlerini kodlayan genlerin ekspresyonu da bu histon modifikasyonları aracılığıyla dinamik olarak düzenlenir.

Bu epigenetik mekanizmalar, hücre zarı proteinlerinin karmaşık regülasyon ağının ayrılmaz bir parçası olup, hücrel adaptasyon ve hastalık patogeneğinde kritik roller oynar.

4. Hücre Yüzey Reseptörlerinin Sınıflandırılması ve Yapısı

Hücrelerin dış ortamla etkileşimini sağlayan ve sinyalleri hücre içine ileten temel moleküler yapılar, **hücre yüzey reseptörleridir**. Bu reseptörler, hücre dışı sinyal moleküllerine (ligandlar) özgül olarak bağlanarak, hücre içinde bir dizi biyokimyasal olayı tetikler ve nihayetinde hücrel bir yanıtın ortaya çıkmasına neden olur. Reseptörlerin çeşitliliği, hücrelerin farklı uyaranlara özgül ve etkili bir şekilde yanıt vermesini sağlar. Reseptörler genellikle yapısal ve sinyal iletim mekanizmalarına göre farklı sınıflara ayrılırlar.

Reseptör Tipleri

Hücre yüzey reseptörleri, sinyal iletimindeki mekanizmalarına göre başlıca üç ana sınıfa ayrılır:

- **İyon Kanal Bağlı Reseptörler (Ligand Kapılı İyon Kanalları):** Bu reseptörler, ligand bağlandığında doğrudan bir iyon kanalını açan veya kapatan transmembran proteinleridir. Ligandın bağlanması, kanalın konformasyonel bir değişikliğe uğramasına neden olarak belirli iyonların (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^-) hücre zarı boyunca geçişine izin verir. Bu durum, zar potansiyelinde hızlı değişikliklere yol açar ve özellikle nöronlarda ve kas hücrelerinde hızlı sinaptik iletim için kritiktir. Örnek olarak, nöromusküler kavşakta asetilkolin reseptörü ve santral sinir sistemindeki GABA reseptörü verilebilir (Purves vd., 2012). Bu reseptörler, genellikle çoklu alt birimlerden oluşur ve her bir alt birim spesifik genler tarafından kodlanır.
- **G-Protein Bağlı Reseptörler (GPCR'ler):** En geniş ve en çeşitli reseptör ailesini oluşturan GPCR'ler, yedi transmembran sarmalı içeren proteinlerdir. Ligandın GPCR'ye bağlanması, reseptörde konformasyonel bir değişiklik yaratır ve bu değişiklik, hücre içi bir **G-proteininin** aktive olmasına yol açar. Aktive olan G-proteini, adenilil siklaz, fosfolipaz C gibi efektör enzimleri veya iyon kanallarını doğrudan aktive ederek hücre içi ikincil habercilerin (cAMP, IP_3 , DAG) sentezini veya iyon akışını değiştirir. GPCR'ler, koku, tat, görme gibi duyuşal algılardan, hormon ve nörotransmitter sinyallerinin iletimine kadar çok çeşitli fizyolojik süreçlerde rol oynar (Katritch vd., 2013). İnsan genomunda yaklaşık 800'den fazla GPCR geni bulunmaktadır ve bunların çoğu ilaç hedefleridir.
- **Enzim Bağlantılı Reseptörler:** Bu reseptörler, sitoplazmik kuyruklarında intrinsic enzim aktivitesine sahip olan veya bir enzimle doğrudan ilişki kuran transmembran proteinleridir. Ligand bağlanması, bu enzim aktivitesini tetikler ve genellikle protein fosforilasyonu yoluyla bir sinyal iletim kaskadını başlatır. En yaygın örneği **Tirozin Kinaz Reseptörleridir (RTK'lar)**. RTK'lar, ligand bağlandığında dimerleşir ve her bir reseptörün sitoplazmik kinaz alanları birbirini ve diğer substrat proteinleri tirozin kalıntıları üzerinde fosforile eder. Bu fosforilasyon, hücre büyümesi, farklılaşma, metabolizma ve hayatta kalma gibi süreçleri düzenleyen sinyal yollarını aktive eder (örn. MAPK, PI3K-Akt yolları). Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ve

insülin reseptörü bu kategoriye örnek verilebilir (Schlessinger, 2000). Serin/treonin kinaz reseptörleri ve tirozin fosfataz reseptörleri de bu gruba dahildir.

Reseptörlerin Genetik Kodlaması

Her bir hücre yüzeyi reseptörü, genomdaki spesifik bir gen tarafından kodlanır. Bu genlerin yapısı, reseptörün türüne ve karmaşıklığına göre değişiklik gösterir. Genetik kodlama, reseptör proteininin amino asit dizisini, dolayısıyla üç boyutlu yapısını, membrana yerleşimini, ligand bağlanma özgülüğünü ve sinyal iletim yeteneğini belirler.

- **Çoklu Alt Birimler:** Özellikle iyon kanal bağlı reseptörler gibi kompleks reseptörler, farklı genler tarafından kodlanan birden fazla alt birimden oluşabilir. Bu alt birimlerin bir araya gelme şekli (stoichiometri), reseptörün fonksiyonel özelliklerini (örn. iyon geçirgenliği, ligand afinitesi) belirler. Bu durum, genetik varyasyonların veya mutasyonların tek bir alt birim genindeki etkilerinin, reseptörün genel fonksiyonu üzerinde önemli sonuçlar doğurabileceği anlamına gelir.
- **Transmembran Alanları:** Reseptör proteinlerinin hücre zarını kateden bölgeleri (transmembran alanları), yüksek oranda hidrofobik amino asitlerden oluşur ve bu alanları kodlayan gen bölgeleri, proteinin membrana doğru şekilde entegrasyonu için kritik genetik talimatları taşır.
- **Sinyal İletim Alanları:** Reseptörlerin hücre içi sinyal iletiminden sorumlu sitoplazmik alanları da genetik olarak kodlanmıştır. Bu alanlar, diğer hücre içi sinyal proteinleriyle etkileşime giren spesifik motifleri (örn. fosforilasyon bölgeleri, protein-protein etkileşim bölgeleri) içerir. Bu bölgelerdeki genetik değişiklikler, sinyal iletiminin bozulmasına ve hastalıklara yol açabilir.

Özetle, hücre yüzey reseptörleri, genetik olarak kodlanmış karmaşık proteinlerdir ve her bir reseptör sınıfının kendine özgü yapısal ve işlevsel özellikleri bulunur. Bu reseptörlerin genetik kodlamasındaki hassasiyet, hücrel sinyal iletiminin doğruluğu ve canlı organizmanın sağlığı için temeldir.

5. Reseptör Genetiği: Ekspresyon, Mutasyon ve Varyasyonlar

Hücre yüzeyi reseptörlerinin fonksiyonları, sadece yapısal bütünlüklerine değil, aynı zamanda gen ekspresyon düzeylerine ve genetik dizilerindeki olası değişikliklere de bağlıdır. **Reseptör genetiği**, bu genlerin ekspresyon paternlerini, genetik mutasyonlarını ve polimorfizmlerini inceleyerek, hücre biyolojisi, hastalık patogenezi ve tedavi yanıtları üzerindeki etkilerini anlamayı hedefler. Genlerdeki küçük değişiklikler bile, reseptör fonksiyonunu önemli ölçüde etkileyerek hücrel iletişimin bozulmasına ve çeşitli hastalıklara yol açabilir.

Örnek Genler

Reseptör genetiği çalışmalarında sıklıkla incelenen ve klinik öneme sahip bazı örnek genler şunlardır:

- **EGFR (Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü):** Tirozin kinaz reseptörleri ailesine ait olan EGFR, hücre büyümesi, çoğalması, farklılaşması ve hayatta kalması gibi süreçlerde kritik rol oynar. *EGFR* geni tarafından kodlanan bu reseptör, özellikle çeşitli kanser türlerinde (örn. akciğer, baş-boyun, kolon kanserleri) **aşırı ekspresyon** veya **aktive edici mutasyonlar** gösterir (Lynch vd., 2004). Bu mutasyonlar, reseptörün ligand bağımsız olarak sürekli aktif kalmasına yol açarak hücre proliferasyonunu artırır ve tümör gelişimini destekler. Bu nedenle EGFR, kanser tedavisinde önemli bir ilaç hedefidir ve anti-EGFR tedavileri (örn. erlotinib, gefitinib) bu mekanizmayı hedef alır.
- **LDLR (Low-Density Lipoprotein Reseptörü):** LDLR, kanda bulunan düşük yoğunluklu lipoproteinleri (LDL) hücre içine almaktan sorumlu bir hücre yüzeyi reseptörüdür. Kolesterol metabolizmasında merkezi bir role sahiptir. *LDLR* genindeki mutasyonlar, reseptörün fonksiyonunu bozarak LDL'nin hücre içine alımını engeller ve kanda LDL kolesterol seviyelerinin yükselmesine yol açar. Bu durum, kalıtsal bir hastalık olan **ailesel hiperkolesterolemiye (FH)** neden olur ve erken yaşta kardiyovasküler hastalık riskini önemli ölçüde artırır (Brown & Goldstein, 1986). *LDLR* genindeki farklı mutasyon tipleri, hastalığın şiddetini ve klinik seyrini etkileyebilir.
- **DRD2 (Dopamin Reseptörü D2):** G-protein bağlı reseptör ailesinin bir üyesi olan DRD2, merkezi sinir sisteminde dopaminerjik sinyal iletiminde önemli rol oynar. DRD2, hareket kontrolü, motivasyon, ödül sistemi ve bilişsel fonksiyonlar gibi birçok süreçle ilişkilidir. *DRD2* genindeki genetik varyasyonlar ve polimorfizmler, şizofreni, bipolar bozukluk ve bağımlılık gibi nöropsikiyatrik hastalıkların patogeneğinde rol oynayabilir (Arranz & de Leon, 2007). Ayrıca, antipsikotik ilaçların etki mekanizması genellikle DRD2 reseptörlerinin modülasyonu üzerine kuruludur, bu da genetik varyasyonların tedavi yanıtlarını etkileyebileceğini gösterir.

Mutasyon Tipleri: Nokta Mutasyon, Delesyon, Duplikasyon

Reseptör genlerindeki genetik değişiklikler, farklı tiplerde ortaya çıkabilir ve protein fonksiyonu üzerinde çeşitli etkilere sahip olabilir:

- **Nokta Mutasyonlar:** DNA dizisinde tek bir nükleotidin değişmesidir. Bu değişiklikler, anlamsız (nonsense) mutasyonlar (erken dur kodonu), yanlış anlamlı (missense) mutasyonlar (farklı bir amino asit kodu) veya sessiz (silent) mutasyonlar (aynı amino asit kodu) olarak ortaya çıkabilir. Örneğin, *EGFR* genindeki T790M nokta mutasyonu, tirozin kinaz inhibitörlerine direnç gelişimine yol açabilen önemli bir klinik türdür (Kobayashi vd., 2005).
- **Delesyonlar:** DNA dizisinden bir veya daha fazla nükleotidin kaybıdır. Büyük delesyonlar tüm bir geni veya gen bölgesini etkileyebilirken, küçük delesyonlar çerçeve kayması mutasyonlarına (frameshift mutations) neden olarak protein sentezini tamamen bozabilir. Örneğin, kistik fibrozise neden olan *CFTR* genindeki delta F508 delesyonu (üç bazlık bir delesyon), fonksiyonel bir klor kanalının üretilmemesiyle sonuçlanır (Kerem vd., 1989).

- **Duplikasyonlar:** DNA dizisinde bir veya daha fazla nükleotidin kopyalanması ve mevcut diziye eklenmesidir. Bu da proteinin boyutunu veya yapısını değiştirebilir, bazen aşırı ekspresyona veya işlev bozukluğuna yol açabilir.

SNP'lerin (Tek Nükleotit Polimorfizmleri) Reseptör Fonksiyonuna Etkileri

Tek Nükleotit Polimorfizmleri (SNP'ler), bir popülasyonda %1'den daha fazla oranda görülen, tek bir baz çiftindeki varyasyonlardır. SNP'ler, genellikle gen fonksiyonunu doğrudan değiştirmese de, reseptör genlerinde meydana geldiklerinde mRNA stabilitesini, transkripsiyon faktörü bağlanmasını, alternatif splicing'i veya proteinin amino asit dizisini etkileyerek reseptör fonksiyonunda küçük ama önemli değişikliklere yol açabilirler (Sachidanandam vd., 2001). Bu değişiklikler, bireylerin hastalıklara yatkınlığını, ilaçlara verdikleri yanıtları (farmakogenomik) veya belirli çevresel uyaranlara karşı duyarlılıklarını etkileyebilir. Örneğin, DRD2 genindeki Taq1A SNP'si, dopamin reseptör yoğunluğunu etkileyerek bazı davranışsal özelliklerle ve psikiyatrik durumlarla ilişkilendirilmiştir (Lander & Schork, 1994).

Alternatif Splicing Örnekleri

Alternatif splicing, ökaryotik genlerde pre-mRNA'dan farklı ekzon kombinasyonlarının seçilerek birden fazla farklı protein izoformunun üretilmesidir. Bu mekanizma, genomun sınırlı sayıda genle çok daha fazla protein çeşitliliği üretmesini sağlar ve hücrelerin fonksiyonel esnekliğini artırır. Reseptör genlerinde alternatif splicing, farklı ligand afinitelerine, sinyal iletim özelliklerine veya hücresel lokalizasyonlara sahip reseptör izoformlarının üretilmesine yol açabilir. Örneğin, CD44 hücre adezyon molekülü ve büyüme faktörü reseptörlerinin çeşitli izoformları, alternatif splicing ile üretilir ve bu izoformlar, hücre adezyonunda, göçünde ve sinyal iletiminde farklı roller oynayabilirler (Günthert vd., 1991). Bu mekanizma, özellikle bağışıklık sistemi ve sinir sistemi gibi karmaşık biyolojik süreçlerdeki hücrelerin adaptasyon yeteneklerini artırır ve hastalık patogenezinde de önemli bir düzenleyici rol oynayabilir.

6. Zar Reseptörleri ve Sinyal İletim Mekanizmaları (Temel Bilim Odaklı)

Hücreler, çevrelerindeki değişikliklere ve içsel ihtiyaçlara yanıt verebilmek için karmaşık bir sinyal iletim ağına sahiptir. Bu ağın merkezinde, hücre zarında yer alan reseptörler bulunur. Reseptörler, dışarıdan gelen sinyalleri (ligandlar) algılayarak bunları hücre içine, hatta çekirdeğe kadar ileten bir köprü görevi görürler. Bu sinyal iletim mekanizmaları, hücre büyümesi, farklılaşma, metabolizma, ölüm ve birçok fizyolojik sürecin düzenlenmesinde temel rol oynar. Bu bölüm, temel bilim perspektifinden zar reseptörlerinin başlattığı başlıca sinyal iletim yollarını ve bunların genetik kontrolünü ele alacaktır.

Hücre Zarından Nükleusa Sinyal Aktarımı

Hücre dışı sinyallerin çekirdeğe ulaşarak gen ekspresyonunu değiştirmesi, hücresel yanıtların uzun vadeli düzenlenmesi için kritiktir. Bu süreç, genellikle bir dizi protein kinaz ve fosfataz aktivitesi aracılığıyla gerçekleşen bir **sinyal transdüksiyon kaskadı** şeklinde ilerler. Reseptörler, ligand bağlandığında aktive olur ve bu aktivasyon, bir dizi hücre içi sinyal molekülünü (ikincil haberciler, adaptör proteinler, kinazlar) harekete geçirir. Bu moleküller, sinyali hücre içinde yayarak, en sonunda gen ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon

faktörlerinin aktivasyonuna yol açar. Bu karmaşık süreç, hücrenin çevresine uyum sağlamasına ve özelleşmiş fonksiyonlarını yerine getirmesine olanak tanır (Alberts vd, 2017).

MAPK, JAK/STAT, PI3K-Akt Yolları

Hücre içi sinyal iletiminde en iyi karakterize edilmiş ve kritik roller oynayan yollardan bazıları şunlardır:

- **MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) Yolu:** Hücre büyümesi, çoğalması, farklılaşması, stresi ve apoptoz gibi temel hücresel süreçlerde merkezi rol oynayan bir sinyal iletim kaskadıdır. Genellikle büyüme faktörü reseptörleri (örn. EGFR) tarafından başlatılır. Sinyal, RAS küçük G proteinlerinin aktivasyonu ile başlar, bu da sırasıyla Raf (MAPKKK), MEK (MAPKK) ve ERK (MAPK) kinazlarını aktive eder. Aktive olan ERK, hem sitoplazmik hedefleri hem de çekirdekteki transkripsiyon faktörlerini (örn. Fos, Jun) fosforile ederek gen ekspresyonunu ve hücresel yanıtları düzenler (Kolch, 2000). MAPK yolunun aşırı aktivasyonu veya düzensizliği, birçok kanser türünün patogeneğinde yaygın olarak görülür.
- **JAK/STAT (Janus Kinase/Signal Transducers and Activators of Transcription) Yolu:** Özellikle sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından tetiklenen, immün yanıt, hücre büyümesi, farklılaşma ve apoptoz gibi süreçlerde kritik öneme sahip bir yoldur. Sinyal, sitokinlerin hücre yüzeyindeki reseptörlerine bağlanmasıyla başlar. Bu bağlanma, reseptörle ilişkili **JAK kinazlarının** (Janus Kinase) aktivasyonunu tetikler. Aktive olan JAK'lar, reseptörün kendisini ve **STAT proteinlerini** (Signal Transducers and Activators of Transcription) tirozin kalıntıları üzerinde fosforile eder. Fosforile olan STAT'lar dimerleşir, çekirdeğe transloke olur ve hedef genlerin transkripsiyonunu doğrudan düzenler (Aaronson & Horvath, 2002). Bu yolun düzensizliği, inflamatuvar hastalıklar ve kanser gibi birçok durumla ilişkilidir.
- **PI3K-Akt (Phosphoinositide 3-Kinase-Akt) Yolu:** Hücre büyümesi, çoğalması, hayatta kalma, metabolizma ve protein sentezi gibi birçok temel hücresel süreci düzenleyen önemli bir sinyal iletim yoludur. Genellikle tirozin kinaz reseptörleri (örn. insülin reseptörü) ve G-protein bağlı reseptörler tarafından aktive edilebilir. Reseptör aktivasyonu, **PI3K** enzimini aktive eder ve bu enzim, hücre zarı lipidlerini fosforile ederek PIP3 (fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfat) üretir. PIP3, **Akt** (Protein Kinaz B) gibi kinazların hücre zarına rekrut edilmesini ve aktivasyonunu sağlar. Aktive olan Akt, apoptozu inhibe eden, protein sentezini artıran ve hücre döngüsünü ilerleten birçok aşağı akım hedefi fosforile eder (Cantley, 2002). PI3K-Akt yolunun aşırı aktivasyonu, insan kanserlerinde en sık görülen anormalliklerden biridir.

Negatif Geri Bildirimler ve Genetik Kontrol

Sinyal iletim yollarının doğru ve hassas bir şekilde çalışması, **negatif geri bildirim mekanizmaları** ile sağlanır. Bu mekanizmalar, sinyalin aşırı veya kontrolsüz aktivasyonunu önleyerek hücresel homeostaziyi sürdürür. Örneğin:

- **Protein Fosfatazlar:** Kinazların eklediği fosfat gruplarını çıkararak sinyal proteinlerini inaktive eden enzimlerdir. Sinyal iletim yolunu kapatmada kritik rol oynarlar (Tonks, 2006).
- **Ubikitinasyon ve Proteazomal Degradasyon:** Sinyal proteinlerinin ubiquitine bağlanarak proteazomda yıkımını tetikleyen mekanizmalardır. Bu, reseptörlerin internalizasyonu ve degradasyonu yoluyla sinyal yanıtının sonlandırılmasında önemlidir.
- **Negatif Düzenleyici Proteinlerin İndüksiyonu:** Sinyal yollarının aktivasyonu, aynı zamanda bu yolları inhibe eden proteinlerin (örn. SOCS proteinleri JAK/STAT yolu için) gen ekspresyonunu da tetikleyebilir.

Bu negatif geri bildirim mekanizmalarını kodlayan genler, sinyal iletiminin genetik kontrolünde hayati bir yere sahiptir. Bu genlerdeki mutasyonlar veya ekspresyon değişiklikleri, sinyal yollarının sürekli olarak aktif kalmasına ve dolayısıyla hastalığın gelişimine katkıda bulunabilir.

Hücre Döngüsü ve Apoptozda Reseptör Rolü

Hücre yüzeyi reseptörleri ve başlattıkları sinyal iletim yolları, hücrenin kaderini belirleyen iki temel süreç olan **hücre döngüsü** (proliferasyon) ve **apoptoz** (programlı hücre ölümü) üzerinde doğrudan etkilidir.

- **Hücre Döngüsü Regülasyonu:** Büyüme faktörü reseptörleri (örn. EGFR, PDGFR) ve onların aşağı akım sinyal yolları (MAPK, PI3K-Akt), hücre döngüsünün ilerlemesi için gerekli olan siklin ve siklin bağımlı kinaz (CDK) proteinlerinin sentezini ve aktivitesini düzenler. Bu reseptörlerin aşırı aktivasyonu veya mutasyonları, hücre döngüsünün kontrolsüz ilerlemesine ve kanser gelişimine yol açabilir.
- **Apoptoz Regülasyonu:** Reseptörler, hem apoptozu başlatan (örn. Fas reseptörü, TNF reseptörü) hem de apoptozu inhibe eden (örn. büyüme faktörü reseptörleri üzerinden PI3K-Akt yolu) sinyalleri iletebilirler. Apoptozu başlatan reseptörler, ölüm ligandları bağlandığında, hücre içi kaspaz kaskadını aktive ederek programlı hücre ölümünü tetiklerler. Bu dengenin bozulması, kanser (apoptoz inhibisyonu) veya otoimmün hastalıklar (aşırı apoptoz) gibi patolojilere neden olabilir (Ashkenazi & Dixit, 1998).

Kısacası, zar reseptörleri aracılığıyla iletilen sinyaller, hücrenin karmaşık yaşam süreçlerini genetik olarak düzenleyen anahtar mekanizmalardır. Bu yolların işleyişinin anlaşılması, hastalıkların moleküler temellerini kavramak ve yeni terapötik stratejiler geliştirmek için esastır.

Reseptör Gen Ekspresyonunun Deneysel İncelemesi

Hücre zarı reseptörlerinin yapılarını, fonksiyonlarını ve regülasyonlarını anlamak, temel biyolojik süreçleri aydınlatmanın yanı sıra hastalıkların teşhisi ve tedavisi için yeni stratejiler geliştirmek açısından da kritik öneme sahiptir. Bu hedeflere ulaşmak için, bilim insanları bir dizi güçlü **moleküler biyoloji ve genetik mühendisliği teknikleri** kullanır. Bu teknikler, hem

genetik düzeyde (mRNA ekspresyonu) hem de protein düzeyinde (protein ekspresyonu, lokalizasyonu ve aktivitesi) reseptörlerin incelenmesine olanak tanır.

Moleküler Teknikler

Reseptör gen ekspresyonunu ve protein sentezini incelemek için yaygın olarak kullanılan başlıca moleküler teknikler şunlardır:

- **RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) ve qPCR (Quantitative Polymerase Chain Reaction) ile Gen Düzeyi Analizi:**
 - **RT-PCR**, bir genin mRNA ekspresyon düzeyini kalitatif olarak belirlemek için kullanılır. Öncelikle hücreden izole edilen mRNA, revers transkriptaz enzimi kullanılarak tamamlayıcı DNA'ya (cDNA) dönüştürülür. Daha sonra bu cDNA, hedef genin çoğaltılması için PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile amplifiye edilir. Elde edilen PCR ürünleri jel elektroforezi ile görselleştirilir (Sambrook & Russell, 2001).
 - **qPCR**, belirli bir mRNA'nın miktarını nicel olarak belirlemek için kullanılan daha hassas bir yöntemdir. Floresan boyalar veya probalar kullanılarak amplifikasyon sırasında oluşan DNA miktarı gerçek zamanlı olarak izlenir. Bu teknik, farklı koşullar altındaki (örn. hastalık durumu, ilaç tedavisi) reseptör gen ekspresyonundaki değişiklikleri doğru bir şekilde ölçmeye olanak tanır ve bu nedenle geniş çaplı gen ekspresyon çalışmaları için tercih edilir (Bustin, 2000).
- **Western Blot ve ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) ile Protein Düzeyi:**
 - **Western Blot**, belirli bir reseptör proteininin hücre veya doku örneklerindeki varlığını, büyüklüğünü ve göreceli miktarını belirlemek için kullanılır. Proteinler öncelikle SDS-PAGE (sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi) ile boyutlarına göre ayrılır ve ardından bir membrana transfer edilir. Membrandaki hedef proteine, özgül antikorlar (birincil ve ikincil antikorlar) kullanılarak bağlanır ve sinyal tespiti ile protein varlığı ve miktarı belirlenir (Mahmood & Yang, 2012).
 - **ELISA**, bir örnekteki belirli bir proteinin (reseptörün) konsantrasyonunu nicel olarak ölçmek için kullanılan yüksek hassasiyetli bir immünolojik tekniktir. Antikor-antijen etkileşimine dayanır ve genellikle bir mikrotitre plakası üzerinde gerçekleştirilir. Renk veya floresan sinyali oluşturulmasıyla protein miktarı belirlenir. ELISA, özellikle çözünür reseptör formlarının veya hücre dışı reseptör alanlarının kanda veya diğer vücut sıvılarında tespit edilmesi için uygundur (Crowther, 2009).
- **İmmunohistokimya (IHC) ve Doku Lokalizasyonu:**
 - **İmmunohistokimya**, belirli bir reseptör proteininin doku kesitleri veya hücreler içindeki hücresel ve subselüler lokalizasyonunu görselleştirmek için kullanılan bir tekniktir. Özgül antikorlar, hedeflenen proteine bağlanır ve bu bağlanma,

floresan boyalar veya enzimler aracılığıyla renkli bir ürün oluşturularak mikroskop altında görüntülenir. IHC, reseptörlerin hücre zarında mı, sitoplazmada mı yoksa çekirdekte mi bulunduğunu belirlemek için kritik öneme sahiptir ve reseptörün fizyolojik veya patolojik koşullar altındaki dağılımındaki değişiklikleri ortaya koyar (Ramos-Vara, 2005). Bu teknik, aynı zamanda tümör dokularında reseptör aşırı ekspresyonunu tespit etmek için de yaygın olarak kullanılır (örn. HER2 ekspresyonu).

Genetik Mühendislik ve CRISPR ile Reseptör Manipülasyonu

Günümüz moleküler biyolojisinde, reseptör genlerinin fonksiyonlarını doğrudan manipüle etmek için güçlü genetik mühendisliği araçları mevcuttur:

- **CRISPR-Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-CRISPR-associated protein 9):** Gen düzenlemesinde devrim yaratan bu teknoloji, belirli bir genetik diziye özgü olarak DNA'yı kesmeye olanak tanır. Bu sayede, araştırmacılar reseptör genlerini inaktive edebilir (knockout), belirli mutasyonları tanıtabilir (knock-in) veya genin ekspresyonunu değiştirebilirler. CRISPR, reseptörlerin hücresel süreçlerdeki rollerini doğrudan test etmek, hastalık modelleri oluşturmak ve potansiyel gen terapileri geliştirmek için kullanılmaktadır (Doudna & Charpentier, 2014).

In Vitro Modeller (Hücre Kültürü, Organoidler)

Reseptör gen ekspresyonunu deneysel olarak incelemek için çeşitli *in vitro* modeller kullanılır:

- **Hücre Kültürü:** Tek tip hücre popülasyonlarının laboratuvar koşullarında yetiştirilmesi, reseptörlerin sinyal iletim yollarını, ilaç yanıtlarını ve genetik manipülasyonlara verdikleri tepkileri kontrollü bir ortamda incelemek için idealdir. Farklı hücre hatları, belirli reseptör ekspresyon profillerine sahip olabilir ve bu da araştırmacıların özgül reseptörleri hedef almasına olanak tanır (Freshney, 2016).
- **Organoidler:** Üç boyutlu, kendi kendini organize edebilen hücre kültürleridir ve kök hücrelerden türetilerek gerçek organların mikroskopik versiyonlarını taklit ederler. Organoidler, dokuların karmaşık hücresel etkileşimlerini ve mimarisini daha iyi yansıttığı için, reseptör ekspresyonu ve fonksiyonunun fizyolojik olarak daha alakalı bir bağlamda incelenmesine olanak tanır. Kanser organoidleri, hastaya özgü reseptör profillerini ve ilaç yanıtlarını test etmek için giderek daha fazla kullanılmaktadır (Clevers, 2016).

Bu deneysel tekniklerin birleşimi, hücre zarı reseptörlerinin genetiği ve biyolojisi hakkında derinlemesine bilgi edinilmesini sağlayarak hem temel bilimde hem de translasyonel araştırmalarda önemli ilerlemelere yol açmaktadır.

8. Sonuç ve Gelecek Perspektifi

Bu kitap bölümü, **hücre zarı ve reseptör genetiği** kavramlarını, moleküler yapılarını, genetik regülasyonlarını ve hücresel sinyal iletimindeki rollerini detaylı bir şekilde ele almıştır.

Hücre zarı, pasif bir bariyer olmaktan çok, hücre yaşamının merkezi bir orkestratörü olarak işlev görür; seçici geçirgenliği, hücreler arası iletişimi ve çevresel sinyallere verilen yanıtları düzenler. Bu kritik fonksiyonlar, zar proteinlerinin, özellikle de reseptörlerin, genetik olarak hassas bir şekilde kodlanması, ekspresyonu ve düzenlenmesi sayesinde mümkün olmaktadır.

Temel Bilimde Hücre Zarı Genetiğinin Rolü

Hücre zarı genetiği, temel bilim araştırmalarında hücre biyolojisinin en dinamik ve önemli alanlarından biridir. Zar proteinlerini kodlayan genlerin yapısının, transkripsiyonel ve epigenetik düzenlenmesinin anlaşılması, hücrenin büyüme, farklılaşma, metabolizma ve hayatta kalma gibi temel süreçleri nasıl yönettiğini aydınlatmaktadır. MAPK, JAK/STAT ve PI3K-Akt gibi sinyal iletim yollarının karmaşıklığı, reseptör genlerindeki küçük mutasyonların veya varyasyonların bile hücresel fonksiyonları derinden etkileyebileceğini göstermiştir. Bu temel bilgiyi derinleştirmek, hücrelerin fizyolojik koşullar altında nasıl işlediğini ve patolojik durumlarda (örn. kanser, nörodejeneratif hastalıklar) neden işlev bozuklukları geliştirdiğini anlamamız için vazgeçilmezdir.

Yeni Nesil Genetik Analizlerin Hücre Biyolojisine Katkısı

Son yıllarda, genetik analiz teknolojilerindeki hızlı ilerlemeler, hücre zarı genetiği çalışmalarına yeni boyutlar kazandırmıştır. **Yeni nesil dizileme (NGS)** teknikleri, tek hücre RNA dizileme (single-cell RNA sequencing) ve genom düzenleme araçları (örn. CRISPR-Cas9), araştırmacılara daha önce mümkün olmayan bir çözünürlükte ve ölçekte gen ekspresyon profilini, genetik varyasyonları ve fonksiyonel etkileri inceleme olanağı sunmaktadır (Mardis, 2017; Papalexi & Satija, 2018). Bu teknolojiler sayesinde, belirli hücre tiplerindeki reseptör ekspresyon heterojenliği, mutasyonların neden olduğu direnç mekanizmaları ve genetik varyantların fenotipik etkileri daha kapsamlı bir şekilde ortaya çıkarılabilmektedir. Örneğin, CRISPR ile belirli bir reseptör geninin fonksiyonunun susturulması veya değiştirilmesi, onun hücresel süreçlerdeki nedensel rolünü doğrudan kanıtlamayı mümkün kılmaktadır.

Hücre Zarı Genetik Çalışmalarının Multidisipliner Potansiyeli

Hücre zarı genetiği alanındaki çalışmaların geleceği, multidisipliner yaklaşımların benimsenmesiyle şekillenecektir.

- **Tıp Alanı:** Kanserden kardiyovasküler hastalıklara, nörolojik bozukluklardan bağışıklık sistemi hastalıklarına kadar birçok patolojinin altında yatan moleküler mekanizmaların anlaşılması, yeni ilaç hedeflerinin belirlenmesi ve kişiselleştirilmiş tıp stratejilerinin geliştirilmesi açısından hücre zarı genetiği hayati öneme sahiptir. Reseptör genetiğindeki ilerlemeler, hastalara özgü genetik profillere dayalı daha etkili tanı ve tedavi yaklaşımlarının önünü açmaktadır.
- **Farmakoloji ve İlaç Geliştirme:** İlaçların büyük bir çoğunluğu, hücre yüzeyi reseptörlerini hedef alarak etki gösterir. Reseptör genlerindeki varyasyonlar, bireylerin ilaçlara verdiği yanıtları (farmakogenomik) ve yan etki profillerini etkileyebilir. Bu alandaki genetik çalışmalar, daha güvenli ve etkili ilaçların geliştirilmesine ve bireyselleştirilmiş dozaj rejimlerinin oluşturulmasına katkıda bulunacaktır (Ingelman-Sundberg, 2004).

- **Biyoteknoloji ve Sentetik Biyoloji:** Hücre zarı reseptörlerinin mühendisliği, biyosensörler, hücre bazlı terapiler ve sentetik biyoloji uygulamaları için büyük potansiyel sunmaktadır. Yeni nesil hücre zarı araştırmaları, yapay hücre zarı sistemlerinin oluşturulması ve hücrelerin programlanabilir davranışlar sergilemesini sağlayacak sentetik reseptör ağlarının tasarlanması gibi alanlara doğru ilerlemektedir.

Sonuç olarak, hücre zarı ve reseptör genetiği, sadece hücresel işleyişin temelini oluşturan moleküler mekanizmaları anlamakla kalmayıp, aynı zamanda hastalıkların tedavisinde ve biyoteknolojik uygulamalarda çığır açacak potansiyele sahip, sürekli gelişen bir araştırma alanıdır. Gelecekteki multidisipliner yaklaşımlar, bu alandaki bilgimizi daha da derinleştirerek insan sağlığı ve bilimi için önemli kapılar açacaktır.

Kaynakça

- Aaronson, D. S., & Horvath, C. M. (2002). A road map for those who don't know JAK-STAT. *Science*, 296(5573), 1653-1655.
- Agre, P. (2006). The aquaporin water channels. Nobel Lecture.
- Ahmed, Shabbir & Zhou, Jie & shuqing, chen. (2016). Pharmacogenomics of Drug Metabolizing Enzymes and Transporters: Relevance to Precision Medicine. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*. 14. 10.1016/j.gpb.2016.03.008.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., M., Roberts, K., & Walter, P. (2017). *Molecular Biology of the Cell* (6th ed.). Garland Science.
- Arranz, M. J., & de Leon, J. (2007). Pharmacogenomics and pharmacogenetics of schizophrenia: a review of the clinical evidence. *Current Pharmaceutical Design*, 13(27), 2735-2751.
- Ashkenazi, A., & Dixit, V. M. (1998). Death receptors: signaling and modulation. *Science*, 281(5381), 1305-1308.
- Black, D. L. (2003). Mechanisms of alternative pre-mRNA splicing. *Annual Review of Biochemistry*, 72(1), 291-336.
- Brown, M. S., & Goldstein, J. L. (1986). A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*, 232(4746), 34-47.
- Bustin, S. A. (2000). Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *Journal of Molecular Endocrinology*, 25(2), 169-193.
- Cantley, L. C. (2002). The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science*, 296(5573), 1655-1657.
- Clevers, H. (2016). Modeling development and disease with organoids. *Cell*, 165(7), 1586-1597.
- Cooper, G. M. (2000). *The Cell: A Molecular Approach* (2nd ed.). ASM Press.
- Crowther, J. R. (2009). *The ELISA Guidebook* (2nd ed.). Humana Press.
- Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2014). The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*, 346(6213), 1258096.
- Ehrlich, M. (2002). DNA methylation in cancer: too much, but also too little. *Oncogene*, 21(35), 5400-5412.
- Freshney, R. I. (2016). *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications* (7th ed.). John Wiley & Sons.
- Günthert, U., Hofmann, M., Rudy, W., Reber, S., Zöller, M., Haussmann, I., ... & Ponta, H. (1991). A new variant of glycoprotein CD44 confers metastatic potential to rat carcinoma cells. *Cell*, 65(1), 13-24.
- Hayden, M. S., & Ghosh, S. (2011). NF- κ B in immunobiology. *Cell Research*, 21, 223-44.

- Jørgensen, P. L., Håkansson, K. O., & Karlsh, S. J. D. (2003). Structure and mechanism of Na,K-ATPase: functional implications of postcrystallization conformational changes. *Annual Review of Physiology*, 65(1), 817-849.
- Katritch, V., Cherezov, V., & Stevens, R. C. (2013). Structure-function of G protein-coupled receptors. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 53, 531-556.
- Kerem, B. S., Rommens, J. J., Buchanan, J. A., Markiewicz, D., Cox, T. K., Chakravarti, A., ... & Tsui, L. C. (1989). Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science*, 245(4922), 1073-1080.
- Kobayashi, S., Boggon, T. J., Dayaram, T., Jänne, P. A., Lynch, T. J., Maki, D. W., ... & Halmos, B. (2005). EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *New England Journal of Medicine*, 352(8), 786-792.
- Kolch, W. (2000). Meaningful relationships: the regulation of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway by protein interactions. *Biochemical Journal*, 351(2), 289-305.
- Lander, E. S., & Schork, N. J. (1994). Genetic dissection of complex traits. *Science*, 265(5181), 2037-2048.
- Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Bretscher, A., Ploegh, H., Amon, A., & Scott, M. P. (2016). *Molecular Cell Biology* (8th ed.). W. H. Freeman and Company.
- Lynch, T. J., Bell, D. W., Sordella, R., Gurubhagavatula, S., Okimoto, R. G., Brannigan, B. A., ... & Haber, D. A. (2004). Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *New England Journal of Medicine*, 350(21), 2129-2139.
- Mahmood, T., & Yang, P. C. (2012). Western blot: technique, theory, and trouble shooting. *North American Journal of Medical Sciences*, 4(9), 429-434.
- Mardis, E.R. (2013) Next-Generation Sequencing Platforms. *Annual Review of Analytical Chemistry*, 6, 287-303.
- Papalexi, E., & Satija, R. (2018). Single-cell RNA sequencing to explore immune cell heterogeneity. *Nature reviews. Immunology*, 18(1), 35–45. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.76>
- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Hall, W. C., LaMantia, A. S., McNamara, J. O., & White, L. E. (2012). *Neuroscience* (5th ed.). Sinauer Associates.
- Ramos-Vara, J. A. (2005). Technical aspects of immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*, 42(4), 405-426.
- Riordan, J. R., Rommens, J. M., Kerem, B., Alon, N., Rozmahel, R., Grzelczak, Z., ... & Collins, F. S. (1989). Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science*, 245(4922), 1066-1073.

- Sachidanandam, R., Weissman, D., Schmidt, S. C., Palmer, J. P., Yi, L., Kao, A., ... & Grewal, N. (2001). A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature*, 409(6822), 928-933.
- Safe, S., & Kim, K. (2004). Nongenomic and genomic pathways of nuclear receptor action. *Journal of Cellular Biochemistry*, 93(4), 629-644.
- Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3rd ed., Vol. 1-3). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Schlessinger, J. (2000). Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell*, 103(2), 211-225.
- Singer, S. J., & Nicolson, G. L. (1972). The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, 175(4023), 720-731.
- Tonks, N. K. (2006). Protein tyrosine phosphatases: from genes, to function, to disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 7(11), 833-846.

BÖLÜM 2

HİSTOGENETİK: HÜCRE VE DOKU GELİŞİMİNİN GENETİK TEMELLERİ

1.Yazar Adı-(Fatma ÇELENK)¹

Histogenetik: Histoloji (doku bilimi) ile genetiğin kesişiminde yer alan, doku ve organ gelişiminin genetik temellerini inceleyen bilim dalıdır. Bu alan, bir organizmada hücrelerin nasıl belirli dokulara ve organlara farklılaştığını ve bu sürecin hangi genetik mekanizmalarla kontrol edildiğini araştırır. Histogenetik; embriyogenez sürecinde, hücrelerin farklı doku tiplerine dönüşümünü sağlayan genetik ve moleküler düzenleyicileri inceler. Germ yapraklarının (ektoderm, mezoderm, endoderm) oluşumu ve genetik kontrolü, hox genleri, transkripsiyon faktörleri, morfogenerler gibi gelişimi yöneten genetik düzenleyiciler, epigenetik değişikliklerin doku farklılaşmasına etkisi, genetik bozuklukların histolojik (mikroskopik doku) yansımaları, kök hücrelerin genetik özellikleri ve doku rejenerasyonundaki rolleri gibi konuları ele alır. Doğumsal anomalilerin (konjenital hastalıkların) nedenlerini anlamak, rejeneratif tıp ve doku mühendisliğinde doğru hücre tiplerini geliştirebilmek, kanser gibi hastalıklarda kontrolsüz doku gelişimi incelemek ve genetik tedavilerin hedeflenmesini kolaylaştırdığından dolayı histogenetik çalışmalarda önem arz etmektedir (Moore, Persaud, & Torchia, 2019).

Histogenetik, embriyonik gelişim sürecinde hücrelerin farklılaşarak özgül doku ve organları oluşturmalarının genetik mekanizmalarını inceleyen disiplinlerarası bir bilim dalıdır. Tarihsel olarak, histoloji ve genetik bilimlerinin bağımsız ilerleyişi sonucunda ortaya çıkan bu alan, günümüzde moleküler biyoloji ve gelişim biyolojisiyle iç içe geçerek hızla gelişmiştir. 19. yüzyılın ortalarında histolojinin doğuşu ve mikroskobun gelişimiyle birlikte, doku yapılarının incelenmesi mümkün olmuş ve farklı doku tiplerinin tanımlanması sağlanmıştır. Bu dönemde histoloji, yapısal olarak doku ve organların incelenmesine odaklanmıştır. 1865 yıllarında Mendel genetiğinin keşfi ile Gregor Mendel'in kalıtım kuralları, genetik biliminin temelini oluşturmuş, ancak genlerin doku ve hücre farklılaşmasındaki rolü o dönemde henüz anlaşılmamıştır. 20. yüzyıl başlarında hücre farklılaşması ve gelişim biyolojisinde embriyonik gelişim süreçleri çalışılmaya başlanmış, hücrelerin farklılaşarak özel doku tiplerine dönüşebildiği gözlemlenmiştir. Bu süreçlerin genetik temellerinin araştırılması, gelişim biyolojisinin doğmasına zemin hazırlamıştır. 1980'ler ve sonrasında moleküler genetik ve genomik devrim kalkınmasıyla DNA dizileme teknikleri, genlerin fonksiyonlarının ve ekspresyon örüntülerinin detaylı incelenmesini sağlamış; Hox genleri gibi gelişimi yönlendiren genler keşfedilmiştir. Günümüzde ise histogenetik, genetik, moleküler biyoloji, biyokimya, ve histoloji disiplinlerinin entegrasyonu ile gelişmekte; doku mühendisliği, kök hücre çalışmaları

¹ Dr, Diyarbakır Tarım ve Orman İl Müdürlüğü, Gıda ve Yem Şube Müdürlüğü, Orcid: 0000-0002-9677-8372

ve gen düzenleme teknolojileri (örneğin CRISPR) alanında kritik rol oynamaktadır (Wolpert, Tickle, & Arias, 2015).

Histoloji, hücre ve dokuların mikroskopik yapısını incelerken; genetik, bu yapıların oluşumunu ve işlevini yöneten kalıtsal bilgiyi araştırır. Her iki disiplin, hücresel yapıların ve dokuların gelişim, farklılaşma ve işlev süreçlerini anlamada birbirini tamamlayıcı niteliktedir. Günümüzde, moleküler biyoloji tekniklerinin gelişmesiyle birlikte histoloji ve genetik arasındaki sınırlar giderek bulanmakta ve bu iki alan, özellikle histogenetik adı verilen disiplin altında entegre bir şekilde incelenmektedir (Ross, Pawlina, & Barnash, 2016).

Hücre ve Doku Gelişiminde Genetik Kontrol

Genetik bilgiler, hücrelerin hangi tipte dokuya dönüşeceğini belirleyen spesifik genlerin ekspresyonuyla ortaya çıkar. Örneğin; Hox genleri gibi gelişim düzenleyici genler, embriyonun farklı bölgelerinde doku tiplerinin oluşumunu sağlar. Bu genlerin aktivitesi, epitel, bağ dokusu, kas ve sinir gibi farklı doku tiplerinin mikroskopik özelliklerini şekillendirir. Gen ekspresyonunun sadece DNA dizisiyle değil, aynı zamanda epigenetik mekanizmalarla da düzenlendiği bilinmektedir. DNA metilasyonu, histon modifikasyonları gibi epigenetik değişiklikler, hücrelerin farklılaşması ve doku spesifik genlerin açılıp kapanmasında rol oynar. Bu da histolojik olarak farklı doku yapılarına karşılık gelir (Gilbert, 2010).

Uygulamalar ve Teknolojik İlerlemeler

*İmmunohistokimya ve İn Situ Hibridizasyon: Belirli genlerin veya proteinlerin dokulardaki lokalizasyonunu göstererek genetik ve histolojik verileri birleştirir.

*Single-cell RNA-seq: Tek hücre düzeyinde gen ekspresyon profillerini çıkartarak hücre heterojenitesini ve doku yapısını genetik açıdan çözümler.

*Gen Düzenleme Teknikleri (CRISPR-Cas9): Genetik manipülasyonlarla doku gelişimindeki genlerin fonksiyonları incelenir, böylece histolojik değişiklikler moleküler düzeyde açıklanabilir (Moore, Persaud, & Torchia, 2019).

Embriyogenez Süreci ve Germ Yaprakları

Zigottan başlayarak germ yapraklarının oluşumuna kadar olan evreler, embriyogenez sürecinin temel taşlarıdır. Canlı organizmanın gelişimi, döllenmiş bir zigotun mitotik bölünmelerle çoğalması ve farklılaşmasıyla başlar. Bu erken embriyonik gelişim süreci “embriyogenez” olarak adlandırılır ve organizmanın tüm doku ve organlarının temelini oluşturur (Gilbert, 2010).

Zigotun Bölünmeleri ve Morula Evresi

Zigot, döllenmenin hemen ardından mitotik bölünmelerle hızla çoğalır. Bu bölünmeler, hücre sayısını artırırken hücrelerin toplam hacmini önemli ölçüde değiştirmez. Sonuçta, sıkıca bir araya gelmiş hücre topluluğu olan morula oluşur. Bu aşamada hücreler henüz farklılaşmamış totipotent (her türlü hücreye dönüşme kapasitesi olan) özellik taşıır (Sadler, 2012).

Blastula Oluşumu ve Hücre Farklılaşması

Morula evresinden sonra, hücreler arasında sıvı dolu boşluklar oluşmaya başlar ve blastula adı verilen yapıya geçilir. Blastulanın dış kısmını saran hücreler ve iç kısımdaki hücre toplulukları arasında farklılaşma başlar. Bu evre, hücrelerin ilk kez işlevsel ve yapısal farklılıklar kazandığı kritik bir dönemdir (Moore, Persaud, & Torchia, 2019).

Gastrulasyon: Germ Yapraklarının Oluşumu

Blastuladan sonra, embriyoda gastrulasyon süreci başlar. Gastrulasyon, hücrelerin hareket ederek üç temel tabakayı, yani germ yapraklarını oluşturduğu karmaşık bir organizasyon aşamasıdır. Bu süreçte; hücreler embriyo içinde içe doğru göç eder (invajinasyon) ve yeni hücre katmanları ortaya çıkar. Ektoderm, embriyonun dış yüzeyinde kalırken, mezoderm ve endoderm iç kısımlarda farklı bölgelerde yerleşir. Bu üç germ yaprağı, organizmanın tüm doku ve organlarının temelini oluşturur (Gilbert, 2010).

Embriyogenez sırasında, hücreler üç ana katman olan germ yapraklarına (ektoderm, mezoderm, endoderm) ayrılır. Bu yapraklar, ilerleyen gelişim evrelerinde vücut dokularının ve organlarının kaynağını oluşturur:

*Ektoderm: Deri epidermisi, sinir sistemi ve bazı duyu organlarının gelişimini sağlar.

*Mezoderm: Kas, kemik, bağ dokusu, kan damarları ve ürogenital sistem gibi yapıların kökenidir.

*Endoderm: Sindirim ve solunum sistemlerinin iç yüzeyini kaplayan epitel dokuların oluşumundan sorumludur.

Her bir germ yaprağının oluşumu ve farklılaşması, genetik programlar ve moleküler sinyal yolları tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilir (Sadler, 2012).

Ektoderm

Gastrulasyon sırasında embriyonun dış yüzeyinde kalan hücrelerden gelişir. Dış tabaka olarak, organizmanın dış çevre ile temas eden kısımlarını oluşturur.

Geliştirdiği Yapılar:

Deri epidermisi: Vücudun dış yüzeyini kaplayan çok katlı epitel dokudur.

Sinir sistemi: Beyin, omurilik ve sinir hücreleri ektodermden köken alır.

Duyu organları: Göz, kulak ve burun epitelleri ektodermal kökenlidir.

Diğer: Saç, tırnak ve ter bezleri gibi aksesuar yapılar da ektodermden gelişir (Gilbert, 2010).

Mezoderm

Gastrulasyon sırasında ektoderm ile endoderm arasında yer alan orta tabaka olarak ortaya çıkar. Embriyonun iskelet, kas ve dolaşım sistemlerinin temelini oluşturur; bağ dokularının geniş bir kısmını sağlar.

Geliştirdiği Yapılar:

Kas dokusu: İskelet, düz ve kalp kasları.

Bağ dokuları: Kıkırdak, kemik, kan ve lenf dokuları.

Dolaşım sistemi: Kalp, kan damarları ve kan hücreleri.

Ürogenital sistem: Böbrekler, genital organlar.

Diğer: Dalak, adrenal korteks gibi bazı organlar (Gilbert, 2010).

Endoderm

Gastrulasyon sırasında embriyonun iç tabakasını oluşturur. Vücudun iç yüzeylerini döşeyen epitel tabakasını meydana getirir.

Geliştirdiği Yapılar:

Sindirim sistemi: Mide, bağırsaklar, karaciğer ve pankreasın iç epiteli.

Solunum sistemi: Akciğerlerin iç yüzeyini kaplayan epitel.

Endokrin bezler: Tiroid, paratiroid bezleri.

Diğer: Östrojen ve progesteron gibi hormonları salgılayan bazı hücre tipleri (Gilbert, 2010).

Bu üç germ yaprağının doğru oluşumu ve farklılaşması, embriyonun normal gelişimi için hayati öneme sahiptir. Genetik regülasyon mekanizmalarını belirler, çoğalmalarını ve göçlerini koordine eder (Sadler, 2012).

Germ Yapraklarının Genetik Regülasyonu

Embriyonik gelişimin temel aşamalarından biri olan germ yapraklarının oluşumu ve farklılaşması, karmaşık genetik ve moleküler mekanizmalar tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir. Bu süreç, hücrelerin kaderini belirleyen gen ekspresyon profilleri ve sinyal yollarının koordinasyonu ile gerçekleşir. Germ yapraklarının genetik regülasyonu, normal doku ve organ gelişimi için kritik öneme sahiptir (Wolpert, Tickle, & Arias, 2015).

Temel Genetik Düzenleyiciler ve Sinyal Yolları

Hox Genleri: Hox genleri, embriyonun ön-arka eksenini boyunca hücrelerin kimliklerini belirleyen ve segmentasyonun düzenlenmesinde rol oynayan homeotik genlerdir. Germ yapraklarının farklı bölgelerinde özgün Hox genleri aktif hale gelir, bu da hücrelerin özgül doku tiplerine farklılaşmasını sağlar (Carroll, 2008).

Notch Sinyal Yolu: Hücreler arası iletişimi düzenleyen Notch sinyal yolu, hücrelerin farklılaşma kararlarında önemli rol oynar. Özellikle mezoderm oluşumunda ve hücre göçünde etkili olduğu bilinmektedir (Bray, 2006).

Wnt Sinyal Yolu: Wnt proteinleri, hücre proliferasyonu ve göçünü kontrol ederek gastrulasyon sürecinde germ yapraklarının oluşumuna katkıda bulunur. Wnt sinyalleri, ektoderm ve mezodermin belirlenmesinde kritik öneme sahiptir (Logan & Nusse, 2004).

BMP (Bone Morphogenetic Protein) Sinyal Yolu: BMP ailesi, özellikle dış tabaka olan ektodermin farklılaşmasını ve mezodermin organizasyonunu düzenler. BMP sinyalleri, germ yaprakları arasındaki sınırların oluşmasında da rol oynar (Wang & Cai, 2010).

Transkripsiyon Faktörleri

Sox ve Fox Gen Aileleri: Bu genler, hücrelerin özgül germ yapraklarına farklılaşmasında transkripsiyonel düzenleyici olarak işlev görür. Örneğin, Sox17 endoderm farklılaşmasında kritik bir faktördür (Lickert & Tam, 2017).

Brachyury (T) Gen: Mezoderm oluşumu için gereklidir ve hücre göçü sırasında mezoderm hücrelerinin hareketini düzenler (Wilson & Beddington, 1997).

Germ yapraklarının oluşumu sırasında genetik regülasyon, hücrelerin hem proliferasyon hem de farklılaşma hızlarını belirler. Hücreler, belirli genetik programları aktif ederek kendilerine özgü doku tiplerine doğru ilerlerken, çevresel sinyallerle de etkileşime girer. Bu karmaşık etkileşim, organizmanın doğru yapısal ve fonksiyonel gelişimini mümkün kılar (Gilbert, 2010).

Histogenetik Açıdan Doku Tipleri

Histogenetik yaklaşım, farklı doku tiplerinin gelişimsel kökenlerini ve bu süreçlerin genetik düzeyde nasıl düzenlendiğini anlamayı amaçlar. Histogenetik açıdan vücutta dört temel doku tipi; epitel, bağ dokusu, kas ve sinir dokusu vardır. Bu dokuların gelişimi, hem germ yaprağı kökenlerine hem de farklılaşmayı yöneten genetik programlara bağlı olarak şekillenir (Ross, Pawlina, & Barnash, 2016).

Histogenetik açıdan vücuttaki doku tipleri:

Epitel Dokular

Embriyolojik Köken: Tüm üç germ yaprağından (ektoderm, mezoderm, endoderm) gelişebilir.

Örnekler:

Ektodermden → Deri epidermisi, ağız ve anal kanalın dış kısmı;

Endodermden → Sindirim sistemi ve solunum yolu epiteli;

Mezodermden → Kan damarlarını döşeyen endotel dokusu.

Genetik Regülasyon: Epitelyal-mesenkimal geçiş (EMT) ve tersine geçiş (MET) süreçleri, epitel hücrelerinin farklılaşmasında temel rol oynar. TGF- β , Notch ve Wnt sinyal yolları epitel dokuların gelişiminde kritik öneme sahiptir. PAX ve SOX gen aileleri, dokuya özgü epitel hücrelerinin oluşumunda görev yapar (Alberts et al., 2014).

Bağ ve Destek Dokuları

Embriyolojik Köken: Büyük oranda mezoderm kökenlidir.

Örnekler: Kıkırdak, kemik, kan, lenf, yağ dokusu ve genel bağ dokusu.

Genetik Regölasyon: SOX9 geni, kıkırdak hücrelerinin farklılaşmasında kritik bir transkripsiyon faktörüdür. RUNX2, osteoblast (kemik hücresi) gelişimi için gerekli bir transkripsiyon faktörüdür. GATA ve CEBP gen ailesi yağ hücrelerinin farklılaşmasında rol oynar (Olsen, 1995).

Kas Dokusu

Embriyolojik Köken: Mezoderm kökenlidir (paraksiyal, lateral ve viseral mezoderm alt bölümlerinden).

Tipleri: İskelet kası: Somitten türeyen paraksiyal mezodermden; Düz kas: Lateral mezoderm ve bazı endoderm (Buckingham, 2006).

Sinir Doku

Embriyolojik kökeni: Ektoderm (nöral tüp ve nöral krest) den köken alır.

Tipleri: Nöronlar, glia hücreleri, Schwann ve satelit hücreleri.

Genetik kontrol: Pax6, Sox1/2/3, Neurogenin ve Notch sinyalleri nöronal gelişimi yönlendirir (Jessell, 2000).

Histogenetikte Kullanılan Güncel Teknikler

Histogenetik araştırmalar, doku gelişiminin genetik ve hücresele temellerini anlamayı amaçlar. Bu amaç doğrultusunda, moleküler biyoloji, genomik, hücre biyolojisi ve görüntüleme teknolojilerinden yararlanılır. Aşağıda, bu alanda öne çıkan güncel teknikler yer almaktadır:

1. CRISPR/Cas9 (Genom Düzenleme): Belirli genlerin hedeflenerek silinmesi (knock-out) ya da değiştirilmesi (knock-in) için kullanılan güçlü bir genetik mühendislik aracıdır. Histogenetikte kullanımı: Gelişimsel genlerin fonksiyonlarını anlamada, hücre kaderinin belirlenmesini etkileyen genetik yolları analiz etmede kullanılır. Örnek: Hox, Sox veya BMP gibi gelişim genlerinin silinerek doku oluşumundaki etkilerinin test edilmesi (Doudna & Charpentier, 2014).

2. Single-cell RNA Sequencing (scRNA-seq): Tek bir hücre düzeyinde gen ekspresyon profillerini analiz etmeye yarayan bir yüksek çözünürlüklü teknik.

Histogenetikte kullanımı: Embriyonik gelişim sırasında hücrelerin farklılaşma yollarının, zamana ve konuma bağlı olarak nasıl değiştiğini anlamada kullanılır. Örnek: Gastrulasyon sürecinde hücrelerin hangi genleri ne zaman ve nasıl aktive ettiklerinin ortaya çıkarılması (Stiehler & Papalexi, 2023).

3. Immunohistokimya (IHK): Belirli proteinlerin doku kesitlerinde lokalizasyonunu göstermek için antikorların kullanılarak tespit edilmesidir.

Histogenetikte kullanımı: Gelişmekte olan dokularda hücre belirteçlerinin tespiti, hücre tiplerinin ayrımı ve farklılaşma düzeylerinin gözlenmesi. Örnek: Nöral tüp oluşumunda Pax6, Sox1, β -tubulin gibi proteinlerin yerleşimi (Ramos-Vara, 2005).

4. In situ hibridizasyon (ISH) & RNAscope: Belirli RNA moleküllerinin hücresel düzeyde lokalizasyonunu gösterir.

Histogenetikte kullanımı: Gelişimsel genlerin hangi bölgelerde aktif olduğunu gösterir. RNAscope, klasik ISH'ye kıyasla daha yüksek duyarlılığa sahiptir (Wang et al., 2021).

5. Organoid ve Gastruloid Modelleri: Laboratuvarda oluşturulan, embriyonik yapıların 3D mini modelleridir.

Histogenetikte kullanımı: Doku organizasyonunun genetik temellerini modellemek, embriyonik gelişimi etik sınırlar içinde incelemek. Örnek: Beyin organoidleri kullanılarak sinir doku gelişiminin modellenmesi (Clevers, 2016).

6. Lineage Tracing (Soy Takibi Teknikleri): Belirli bir hücre grubunun zamanla hangi hücre tiplerine farklılaştığını izlemeyi sağlar.

Histogenetikte kullanımı: Embriyonik kökenlerin izlenmesi, hücre kaderinin aydınlatılması. Yöntemler: Cre-LoxP sistemi, Fluorescent Reporter genleri (GFP, tdTomato) ile kombine edilir (Kretschmar & Watt, 2012).

7. Flow Sitometri & FACS (Fluorescence-Activated Cell Sorting): Hücreleri yüzey belirteçlerine göre tanımlama ve ayırma teknolojisidir.

Histogenetikte kullanım: Farklılaşan hücre alt popülasyonlarını izole etmek ve genetik analizlere hazırlamak. Örnek: Embriyonik kök hücrelerden ektoderm/mezoderm/endoderm ayrıştırılması (Herzenberg, Sweet, & Herzenberg, 1976).

8. Epigenetik Analiz Teknikleri: DNA metilasyonu, histon modifikasyonları, kromatin erişilebilirliği (ATAC-seq, ChIP-seq vb.) gibi analizleri içerir.

Histogenetikte kullanımı: Farklılaşan hücrelerin epigenetik durumlarının belirlenmesi, hücre kaderi belirleyici epigenetik faktörlerin ortaya çıkarılması. Örnek: Nöral progenitör hücrelerde açık kromatin bölgelerinin haritalanması (Hon, Hawkins, & Ren, 2012).

9. Canlı Hücre Görüntüleme & Time-lapse Mikroskopi: Gelişen embriyoda hücre hareketlerinin, bölünmelerin ve farklılaşma süreçlerinin zaman içinde izlenmesini sağlar. Histogenetikte kullanımı: Gastrulasyon, nöral tüp oluşumu gibi dinamik süreçlerin doğrudan gözlenmesi (Philippi & Weigert, 2014).

10. Transcriptomik ve Proteomik Veri Entegrasyonu: Geniş ölçekli gen ve protein ifade verilerinin birleştirilerek hücresel farklılaşma yollarının tanımlanması.

Histogenetikte kullanımı: Hücre kaderi geçişlerinin hem transkript düzeyinde (RNA-seq) hem de protein düzeyinde (Mass spectrometry) izlenmesi (Aebersold & Mann, 2003).

Sonuç

Histoloji ve genetik, organizmadaki hücre ve doku yapılarının nasıl oluştuğunu ve işlediğini anlamak için birlikte çalışır. Genetik, hücrelerin kaderini ve farklılaşmasını belirlerken; histoloji bu süreçlerin mikroskobik yansımalarını ortaya koyar. Bu disiplinlerin etkileşimi, hem temel biyoloji hem de klinik açıdan kritik öneme sahiptir. Histoloji, dokuların

mikroskobik yapısını ve organizasyonunu incelerken; genetik, bu yapıların nasıl geliştiğini ve işlev gördüğünü belirleyen kalıtsal bilgiyi araştırır. Hücrelerin belirli doku tiplerine dönüşmesi, gen ekspresyonunun zaman ve mekâna bağlı düzenlenmesiyle sağlanır. Histogenetik, hücrelerin embriyonik gelişim sürecinde farklılaşarak özgül doku ve organları oluşturmalarının genetik temellerini inceleyen disiplinlerarası bir bilim dalıdır. Bu süreçte, genetik düzenleyiciler, transkripsiyon faktörleri ve epigenetik mekanizmalar önemli rol oynar (Gilbert, 2010).

Histogenetik, çok disiplinli bir bilim dalı olduğundan, genetik mühendislik, moleküler biyoloji ve ileri görüntüleme tekniklerinin birlikte kullanımını gerektirir. Bu teknikler sayesinde hücrelerin gelişimsel yolculukları hem moleküler hem de yapısal düzeyde detaylı biçimde izlenebilmekte, gelişimsel hastalıkların altında yatan mekanizmalar daha iyi anlaşılabilir (Wolpert, Tickle, & Arias, 2015).

Histogenetik, hücre ve doku gelişiminin altında yatan genetik ve moleküler mekanizmaları anlamaya yönelik disiplinlerarası bir yaklaşımdır. Embriyogenez sürecinde zigottan başlayarak üç temel germ yaprağının (ektoderm, mezoderm, endoderm) oluşumu ve bu yapraklardan türeyen doku tiplerinin gelişimi, hem genetik regülasyon ağları hem de epigenetik kontrol mekanizmaları tarafından hassas bir şekilde yönlendirilir. Bu süreçlerde rol alan transkripsiyon faktörleri, sinyal yolları (BMP, Wnt, Notch, FGF vb.), genetik ekspresyon programları ve hücre-mikroçevre etkileşimleri, hücrelerin kaderini belirlemede merkezi rol oynar. Aynı zamanda, gelişen teknolojiler özellikle CRISPR/Cas9, single-cell RNA sequencing, immunohistokimya ve organoid modeller histogenetik araştırmalara yeni boyutlar kazandırmış, doku gelişim süreçlerinin hem temel biyoloji hem de hastalık bağlamında daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Histogenetik alanındaki güncel gelişmeler; konjenital anomalilerin anlaşılmasından rejeneratif tıpta doku mühendisliğine, genetik hastalıkların modellenmesinden bireyselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarına kadar geniş bir uygulama yelpazesine zemin hazırlamaktadır. Genetik ve moleküler biyoloji tekniklerindeki ilerlemeler, bu mekanizmaların daha iyi anlaşılmasını sağlayarak doğumsal hastalıkların ve gelişim bozukluklarının çözümüne katkıda bulunmaktadır. Hücre ve doku gelişiminin genetik temellerini kavramak, sadece gelişimsel biyolojinin değil, aynı zamanda translasyonel tıbbın da geleceğini şekillendirecek öneme sahiptir (Alberts et al., 2014; Tabin & Wolpert, 2007).

Kaynakça

- Aebersold, R., & Mann, M. (2003). Mass spectrometry-based proteomics. *Nature*, 422(6928), 198-207.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2014). *Molecular Biology of the Cell* (6th ed.). Garland Science.
- Bray, S. J. (2006). Notch signalling: a simple pathway that regulates many cell fates. *EMBO Reports*, 7(7), 678-683.
- Carroll, S. B. (2008). Evo-devo and themouseX. *Cell*, 134(5), 724-728.
- Clevers, H. (2016). Modeling development and disease with organoids. *Cell*, 165(7), 1586-1597.
- Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2014). The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*, 346(6213), 1258096.
- Gilbert, S. F. (2010). *Developmental Biology* (9th ed.). Sinauer Associates.
- Herzenberg, L. A., Sweet, R. G., & Herzenberg, L. A. (1976). Fluorescence-activated cell sorting. *Scientific American*, 234(3), 108-117.
- Hon, G. C., Hawkins, R. D., & Ren, B. (2012). Chromatin organization in pluripotent stem cells. *Genes & Development*, 26(21), 2329-2342.
- Jessell, T. M. (2000). Neuronal specification in the spinal cord: inductive signals and transcriptional codes. *Nature Reviews Genetics*, 1(1), 20-29.
- Kretschmar, K., & Watt, F. M. (2012). Lineage tracing. *Cell*, 148(1-2), 33-45.
- Lickert, H., & Tam, P. P. L. (2017). Genetic control of embryonic germ layer formation. *Current Topics in Developmental Biology*, 121, 1-28.
- Logan, C. Y., & Nusse, R. (2004). The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 20(1), 781-810.
- Moore, K. L., Persaud, T. V. N., & Torchia, M. M. (2019). *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology* (11th ed.). Saunders.
- Olsen, B. R. (1995). The molecular biology of cartilage and bone development. *Osteoarthritis and Cartilage*, 3(4), 213-221.
- Philippi, C. L., & Weigert, M. (2014). Advances in live-cell imaging of developmental processes. *Current Opinion in Genetics & Development*, 25, 1-7.
- Ramos-Vara, J. A. (2005). Technical aspects of immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*, 42(4), 405-426.
- Ross, M. H., Pawlina, W., & Barnash, L. A. (2016). *Histology: A Text and Atlas: With Correlated Cell and Molecular Biology* (7th ed.). Wolters Kluwer.

- Sadler, T. W. (2012). *Langman's Medical Embryology* (12th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
- Stiehler, C., & Papalexi, E. (2023). A guide to single-cell RNA sequencing in developmental biology. *Developmental Cell*, 58(15), 1845-1859.
- Tabin, C. J., & Wolpert, L. (2007). *Principles of Development* (3rd ed.). Oxford University Press.
- Wang, F., Flanagan, J., Su, N., Wang, L. C., Bui, S., Ngao, K., ... & Shi, Z. (2021). RNAscope: a novel in situ hybridization platform for detection of RNA in cells and tissues. *Journal of Molecular Diagnostics*, 23(3), 291-306.
- Wang, S. N., & Cai, H. (2010). Bone morphogenetic proteins in neural development and disease. *Progress in Neurobiology*, 91(3), 209-218.
- Wilson, V., & Beddington, R. S. (1997). The mouse T gene and its role in mesoderm formation. *Current Opinion in Genetics & Development*, 7(4), 517-522.
- Wolpert, L., Tickle, C., & Arias, A. M. (2015). *Principles of Development* (5th ed.). Oxford University Press.

BÖLÜM 3

APOPİTOZİS VE EMBRİYOLOJİDEKİ ÖNEMİ

MUHAMMED KASIM AYDIN¹

FATMA ÇELENK²

M.AYDIN KETANİ³

Giriş

Yunancada apo(=ayrı) ve ptosiz(=düşen) kelimelerinin birleştirilmesi ile oluşan ve hücre kaybı, hücre ölümü olarak da tanımlanmaktadır. Tüm canlılar gibi hücrelerde doğarlar, belirli bir süre yaşarlar ve sonra da ölürlər. Programlanmış hücre ölümü apoptoz, organizmanın ihtiyaç duymadığı, biyolojik görevini tamamlamış veya hasarlanmış hücrelerin, zararsız bir biçimde ortadan kaldırılmasını sağlayan ve genetik olarak kontrol edilen programlı hücre ölümüdür. Yetişkinlerin dokularında ve embriyolojik gelişiminde çok önemli rol oynayan hücre ölümünün, normal fizyolojik bir biçimdir (Krasovec et al., 2022).

¹ Dr, Diyarbakır Tarım ve Orman İl Müdürlüğü, Orcid: 0000-0003-3140-8618

² Dr, Diyarbakır Tarım ve Orman İl Müdürlüğü, Gıda ve Yem Şube Müdürlüğü, Orcid: 0000-0002-9677-8372

³ Prof., Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD, Orcid: 0000-0002-1546-9747

Apoptozisin Görüldüğü Hücre Çeşitleri:

İnce bağırsaklar: İnce bağırsaklardaki kriptaların tabanlarında yeni oluşan hücreler, kriptaların uçlarına doğru göç ederler ve 3-4 gün süren bu göçün sonunda ölürek, bağırsak boşluğuna dökülürler.

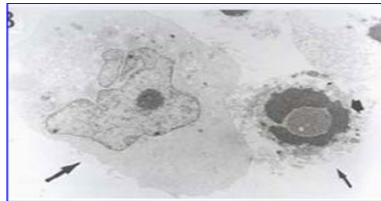
Deri : Derinin keratinositleri derinin bazal tabakasında oluştuktan sonra derinin en üst tabakasına doğru (stratum korneum) göç ederler. Bu göç esnasında derinin her tabakasında çeşitli farklılaşma özellikleri gösterip en sonunda derinin organizmayı dış etkenlerden (enfeksiyon, travma vs.) koruyucu ölü tabakasını oluşturmak üzere ölürler. Deri keratinositlerinde bu şekilde gerçekleşen apoptozisin özelleşmiş bir apoptozis formu olduğu düşünülmektedir.

Timus: İmmün sistemin çok önemli hücreleri olan T lenfositler timusta olgunlaşırlar. Bu hücrelerin etkisiz olanları veya organizmanın kendi dokularına karşı reaksiyon verme potansiyeli taşıyanları kan dolaşımına girmeden önce apoptozisle ölürler ve böylece ortamdaki uzaklaştırılırlar.

Uterus: Menstruasyon esnasında uterusun iç duvarındaki hücreler ölürler ve menstruasyon kanıyla uzaklaştırılırlar. Böylece, uterusun iç tabakası (endometrium) apoptozisle dökülür.

Beinde: Sinapsların oluşumu esnasında bazı nöronlar apoptozisle ortamdaki uzaklaştırılırlar (Walia et al., 2021).

Şekil 1 Normal Hücre ve Apoptotik Hücre



Kaynak: (Mis & Yeltekin, 2014)

Apoptozis ve Nekroz:

Yaşamakta olan hücreler iki farklı mekanizma ile ölürlür. Bu mekanizmalar nekroz ve apoptozisdir.

Nekroz; hipoksi, aşırı ısı değişiklikleri, toksinler gibi hücre dışından gelen çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenler sonucunda gelişen travmatik hücre ölümüdür.

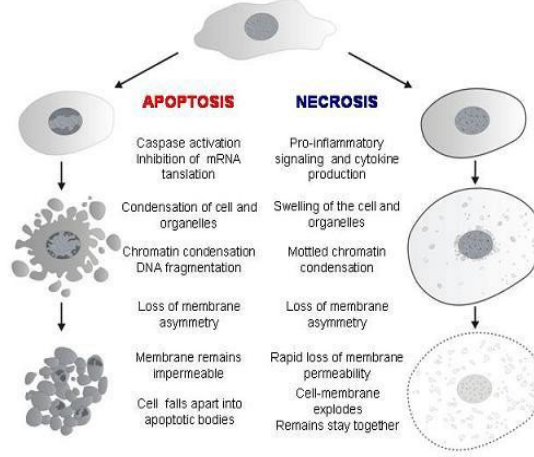
Apoptozis ise yaşlanmış, fonksiyonunu yitirmiş, fazla üretilmiş, düzensiz gelişmiş veya genetik olarak hasarlı hücrelerin, organizma için güvenli bir şekilde yok edilmelerini sağlayan ve genetik olarak kontrol edilen programlı hücre ölümüdür. Nekroz patolojik bir olaydır. Apoptozis ise fizyolojik veya patolojik uyarılarla oluşabilir.

Apoptozis ve Nekrozis Arasındaki Farklar

- Nekrozis fizyolojik bir olay değildir. Apoptozis hem fizyolojik hem de patolojik şartlar altında meydana gelebilir.
- Nekrozisde hücre şişerken, apoptotik hücre tam tersine küçülür.
- Nekroziste kromatin patterni hemen hemen normaldir. Apoptotik hücrenin kromatini nükleus membranının çevresinde toplanır ve yoğunlaşır. Apoptozisin en önemli özgül yönü DNA’NIN internükleozomal bölgelerden parçalanmasıdır.
- Nekrotik hücrenin plazma membranı bütünlüğünü kaybeder. Apoptotik hücre membranı sağlamdır.
- Nekrotik hücre sonradan lizise uğrar. Apoptik hücre küçük cisimciklere parçalanır.

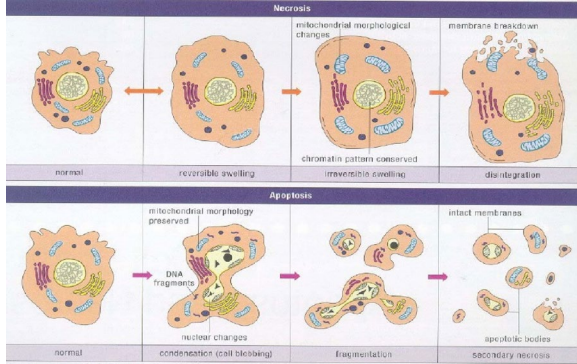
- Nekroziste inflamasyon uyarılır. Apoptoziste inflamasyon oluşmaz (Costigan et al., 2023).

Şekil 2 Apoptoz ve Nekroz Arasındaki Farklar



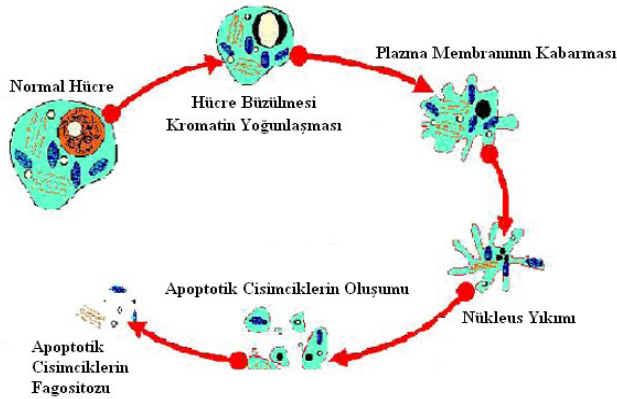
Kaynak: (<https://acikders.ankara.edu.tr/>)

Şekil 3 Apoptoz ve Nekrozun Moleküler Mekanizması



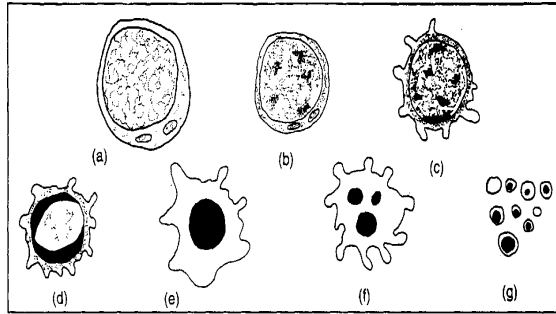
Kaynak: (<https://acikders.ankara.edu.tr/>)

Şekil 4 Apoptozisin Gerçekleşme Süreci



Kaynak: (<https://acikders.ankara.edu.tr/>)

Şekil 5 Bir lenfositteki apoptozis evreleri



Kaynak: (<https://acikders.ankara.edu.tr/>)

Apoptozis Hücre Ölümünün Aşamaları

Apoptozis hücre içinden veya dışından gelen sinyallerle başlatılan ve birbirini takip eden bir olaylar zinciri olarak seyreder. Sonuçta hücrenin fagositozu ile sona erer. Bu aşamalar;

- 1-Apoptozis'in başlatılması,
- 2-Hücre içi proteazların (kaspazların) aktivasyonu,

3-Hücrede çeşitli morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerin oluşması,

4-Fagositoz olarak özetlenebilir.

Şekil 6 Apoptoz basamakları



Kaynak: (Öztürk, 2002)

Apoptozun başlatılması

Hücresinin apoptoza gidebilmesi için ilk önce, ilgili genetik mekanizmayı harekete geçirecek bir sinyalle karşılaşması gerekir. Bu sinyal hücre içinden veya dışından gelebilir (Mosadegh et al., 2025).

Hücre Dışından Kaynaklanan Sinyaller

Çevresel yaşam sinyallerinin ve büyüme faktörlerinin yetersizliği: Hücreler, çevre hücrelerden ve ekstrasellüler matriksten gelen yaşam sinyallerine, büyüme faktörlerine ihtiyaç duyarlar. Bu sinyaller düzenli bir şekilde ve yeterli miktarda olmazsa hücreler apoptoza giderler.

Örneğin nöronlar “nerve growth factor (NGF)” yetersizliğinde apoptoz gösterebilirler. Çevreden gelen sinyallerin kesilmesi ile hücre ölümünün nasıl başladığı tam olarak bilinmemektedir. Büyüme faktörüne bağımlı hücrelerin

kültürlerinde, büyüme faktörleri çekildiği zaman, hücrelerin metabolizmalarında ani bozulmalar ve hücre siklusunda duraklama olduğu izlenmiştir (Mosadegh et al., 2025).

Ölüm reseptörlerinin aktivasyonu (Reseptör-Ligand Etkileşimi)

Bazı sitokinler hücre membranında bulunan reseptörlere bağlanarak ölüm programını harekete geçiren sinyaller üretebilirler. Apoptozda rol alan membran reseptörleri içinde en önemli grup “tumor necrosis factor receptor (TNFR)” ailesidir. Bu reseptör grubunun en az 19 üyesi vardır. Bu reseptörlerin biyolojik etkileri çeşitlidir ve apoptoz ile sınırlı değildir. Bir kısmı apoptoz oluştururken, bir kısmı proliferasyona neden olur. Bir kısmı ise her ikisini de oluşturur.

TNFR içinde apoptoz oluşturan reseptörlerden en önemlileri Fas ve TNFR1’dir. Bu reseptörler uyarıldıklarında, hücrenin sitoplazmasında bulunan parçaları, “adaptör proteinlere” bağlanır. Adaptör proteinlerin ölüm efektör parçaları vardır. Bunlar da apoptoz için başlatıcı olan kaspazlara bağlanırlar (Booth et al., 2024).

Fas-Fas ligand aracılı apoptoz

Bu tip apoptoz hücre yüzey reseptörü Fas (CD95, APO-1) aracılığı ile oluşur. Fas ligandın Fas reseptörüne bağlanması ile Fas reseptörünün hücre içinde bulunan parçası, Fas adaptör proteinle (FADD- Fas adapter protein with a death domain) birleşerek ölüm başlatan sinyal kompleksini (death inducing signal complex - DISC) oluşturur. Bu da prokaspaz 8’ in aktifleşmesini sağlar.

Fas ligand membrana bağlı veya solubl olabilir. Solubl fas ligand (FasL, CD95L) immun sistem hücreleri tarafından oluşturulur. Bu ligandın T hücreleri membranında bulunan Fas reseptörüne bağlanmasıyla, immün reaksiyonla aktive olmuş ve

görevlerini tamamlamış olan lenfositlerin apoptoz ile yok edilmeleri sağlanmış olur (Fernández-Lázaro et al., 2024).

Tumor Necrosis Factor (TNF) aracılığıyla apoptoz

Bir sitokin olan TNF'nin TNF reseptörleri ile birleşmesi (örn TNFRF1) sonucunda reseptörün hücre içinde bulunan parçası, TNFR adaptör protein (TRADD- TNFR adapter protein with a death domain) ile etkileşir. TRADD daha sonra FADD ile birleşerek prokaspaz 8'i aktifleştirerek apoptoza neden olur (Mosadegh et al., 2025)

Sitotoksik T lenfosit aracılığıyla apoptoz

Sitotoksik T lenfositler (CTL) infekte olmuş olan konakçı hücrelerin yüzeyinde bulunan yabancı antijenleri tanırlar. CTL'lerin ana görevi malign ve/veya virus ile infekte olmuş olan hücrelerin öldürülmesidir. Yabancı antijenleri tanıdıklarında yüzeylerinde Fas ligand oluşur. Hedef hücrelerin Fas reseptörlerine tutunurlar. CTL ler sitoplazmalarında granzyme B (serin proteaz) ve perforin adı verilen ve apoptoz oluşmasını sağlayan proteinler içeren sitoplazmik granüllere sahiptirler. Perforin, transmembran por oluşturucu bir proteindir. CTL'ler hedef hücrelerin membranlarında perforin ile porlar oluşturarak sitoplazmalarına granzyme B salgırlar. Granzyme B hedef hücrelere girerek kaspazları aktive eder (Tuomela et al., 2022).

Hücrelerin maruz kaldığı dış etkenler:

Hipoksi, ısı, antikanser ilaçlar, radyasyon, gamma ve ultraviyole ışınlar gibi etkenler apoptoza neden olabilirler . Bu etkenler DNA hasarı oluşturarak apoptoz meydana getirirler (Zuo et al., 2023).

Hücre İçinden Kaynaklanan Sinyaller:

DNA hasarı, hücre içi Ca^{++} seviyesinde artış, hücre içi bozuklukları hücreyi apoptoza götüren merkezi hücre ölüm sinyallerini başlatabilmektedir (Weigelin & Friedl, 2022)

Şekil 7 Apoptoz sürecindeki hücreye kalsiyum girişi



Kaynak: (Daşdağ, 2014)

Hücre İçi Proteazların Aktivasyonu

İç ve dış sinyallerle hücre içinde bulunan bir grup proteaz aktive olur. Bu proteazlara **kaspaz** ("**caspase**"= cysteine – containing **asp**artate specific proteases) adı verilmektedir. İnsan hücrelerinde 10'dan fazla kaspaz tespit edilmiştir. Sağlıklı hücrelerde kaspazlar, enzimatik olarak inaktif ve aktif forma göre daha uzun bir polipeptid zincir olarak bulunurlar. Buna zimogen form denir. Kaspazlar başlatıcı ve sonlandırıcı kaspazlar olarak ikiye ayrılırlar. Ölüm reseptörleri adaptör proteinler aracılığı ile, iç sinyaller ise mitokondri aracılığı ile başlatıcı kaspazları aktive ederler. Aktive olan başlatıcı kaspazlar da, zincirleme olarak diğer kaspazları aktive ederler.

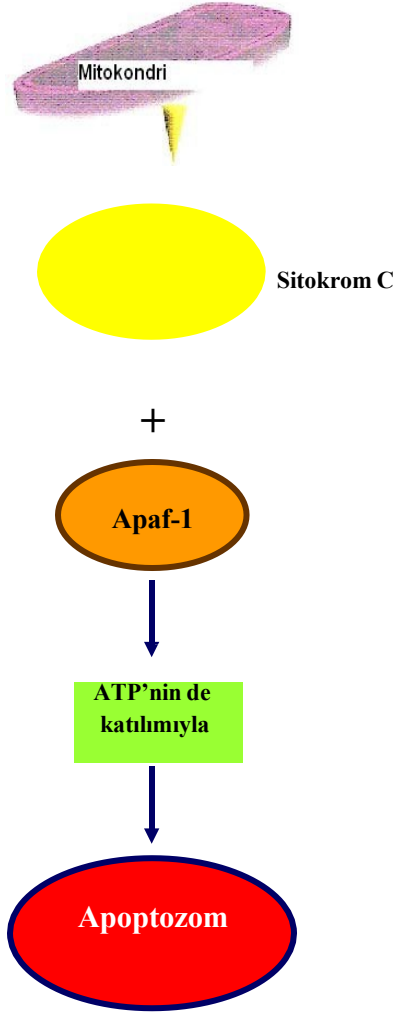
İç sinyallerle oluşan apoptozda mitokondri önemli rol oynamaktadır. Sinyaller dış mitokondri zarında geçirgenlik artışına neden olurlar. Mitokondri dış zarının geçirgenliğini, bazı proteinler

ayarlamaktadır. Bunların en önemlisi bcl-2 grubu proteinlerdir. Bu grubu oluşturan proteinlerin bir kısmı antiapoptotik, bir kısmı ise proapoptotiktir. Bcl-2 proteini antiapoptotiktir. Mitokondri dış membranına ve apoptoz proteaz aktive edici faktör 1 (apaf 1)'e tutunmuştur. Hücrenin içinden kaynaklanan apoptotik sinyaller Apaf 1'in mitokondriden ayrılmasına neden olur. Bu ayrılma dış mitokondri zarının geçirgenliğini artırır. Geçirgenliğin artması, mitokondrinin iki zarı arasında bulunan sitokrom c'nin sitozole çıkmasına neden olur. Sitokrom c sitoplazmada apaf 1, kaspaz 9 ve ATP ile birleşir. Oluşan yapıya apoptozom denir. Apoptozom sonlandırıcı kaspaz olan kaspaz 3' ü aktive ederek apoptoza neden olur.

Hücrede iç veya dış nedenlerle DNA hasarı olduğunda aktive olan bazı genler, hücrenin apoptozuna neden olabilir. Bu genlerden en önemlisi p53 genidir. İnsan tümörlerinin %50'den fazlasında mutasyona uğradığı tespit edilen p53 geninin, kanser oluşumunu önlemede kritik rol oynadığı kabul edilmektedir.

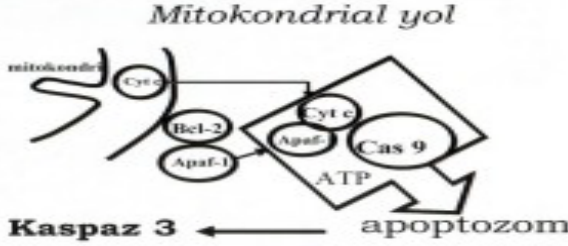
Normalde inaktif durumda bulunan p53 geni, DNA hasarı olduğunda aktifleşerek p21 genini harekete geçirir. p21 geni hücrenin geç G1 fazında kalarak, S fazına geçmesini engeller. Böylece hücre siklusu durdurularak oluşmuş olan DNA hasarlı hücrenin çoğalması engellenir. p53 geni DNA tamiri yapan proteinlerin transkripsiyonunu sağlar. Bu proteinler DNA hasarını tamir edebilirse, hücre siklusundaki blok kalkar. Hücre hasarının tamiri başarılı olmazsa p53 geni bax proteinini (bcl-2 grubu) proteinlerden, aktive ederek mitokondri aracılığı ile hücrenin apoptoza giderek ölmesini sağlar. Böylece DNA hasarlı hücre ortadan kaldırılmış olur (Booth et al., 2024).

Şekil 8 Apoptozisin Regülasyonu



Kaynak: (Aksit ve Bildik., 2008)

Şekil 9 Apoptoz sırasında hücre içi sinyallerle aktifleşen mitokondrial yol



Kaynak: (Öztürk, 2002.)

Hücrede Oluşan Biyokimyasal ve Morfolojik Değişiklikler

Biyokimyasal Değişiklikler:

- 1-DNA kırıklarının oluşması
- 2-Hücre iskeletinin yıkılması
- 3-Hücre membran değişiklikleri

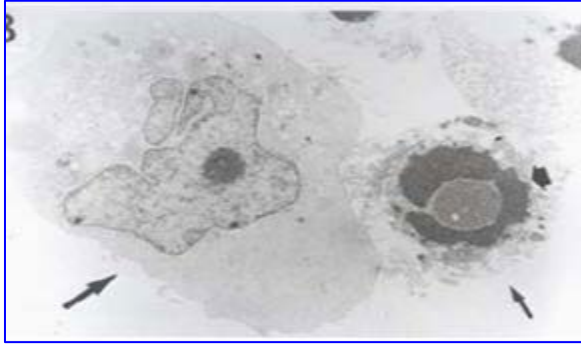
Morfolojik Değişiklikler

Hücreler özelleşmiş yüzeysel yapılarını ve diğer hücrelerle olan temas yüzeylerini kaybederler. Su kaybederek küçülürler, büzüşürler. Sitoplazmanın yoğunlaştığı, organellerin birbirlerine yakınlaştığı izlenir. Membranlar bütünlüklerini korurlar. Organeller genel olarak sağlamdır. Bazen ribozomlarda çökme izlenebilir. Sitoplazmada yüzeye paralel yerleşmiş mikofilaman kümeleşmeleri ve endoplazmik retikulumda geçici genişlemeler görülür. Genişlemelerin sitoplazmadaki suyun endoplazmik retikuluma geçmesi ile oluştuğu sanılmaktadır. Dilatasyona uğrayan sisternalar hücrenin yüzeyi ile birleşerek yüzeyde krater manzarası oluşturur. Mitokondriler genellikle normal yapılarını korurlar. En önemli değişiklikler çekirdekte izlenir. Kromatin çekirdek membranına

yakın kısımlarda yoğunlaşarak, değişik şekil ve büyüklüklerde çöker. Elektron mikroskop ile bakıldığında kromatinin yoğun granüler yarım ay, hilal veya yüzük şeklinde çekirdek membranının iç yüzünde yerleştiği izlenir. Çekirdek de hücre gibi büzüşür. Bazen membranla sarılı olarak birkaç parçaya ayrılabilir. Nükleer porlar kromatinin membrana komşu olmadığı bölgelerde yoğunlaşırlar.

Apoptotik süreç ilerledikçe hücrelerde sitoplazmik çıkıntılar oluşur. Hücre daha sonra membranla çevrili küçük parçalara bölünür. Bunlara “apoptotik cisim” adı verilir. İçlerinde sitoplazma ve sıkıca paketlenmiş organeller bulunur. Bazılarında çekirdek parçaları da mevcuttur (Gao et al., 2024; Perrotta, 2024; Rana & Model, 2020).

Şekil 10 Normal hücre ve apoptotik hücre

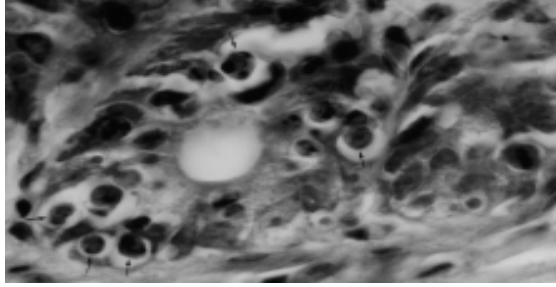


Kaynak: (Mis & Yeltekin, 2014)

Fagositoz

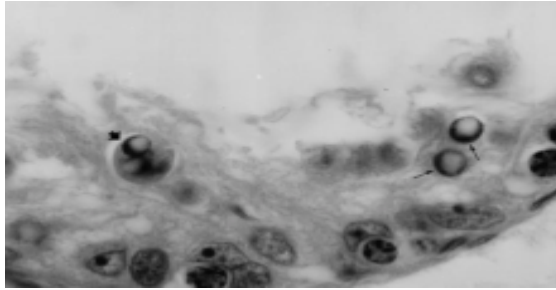
Apoptotik cisimler çevredeki parenkim hücreleri ve fagositler tarafından fagosit edilerek dokudan temizlenirler.

Şekil 11 Fare ileum Liber kühn bezlerinde apoptotik hücreler (ok).



Kaynak: (Öztürk, 2002)

Şekil 12 Sıçan testislerinde apoptotik hücrelerin hilal şeklindeki çekirdekleri (ince ok), koyu eozinofilik sitoplazmalı apoptotik hücreler.



Kaynak: (Öztürk, 2002)

Apoptozisin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Histolojik ve Mikroskopik Yöntemler

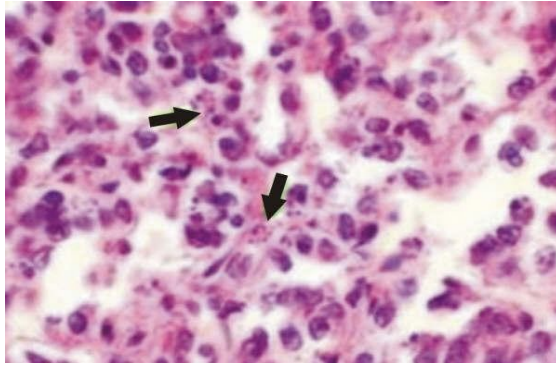
Apoptotik hücre ölümünü tanımlamak ve ölçmek için çeşitli teknikler kullanılır ve her biri DNA parçalanması, kaspaz aktivasyonu ve membran değişiklikleri gibi sürecin farklı yönlerini hedefler. Apoptozis araştırmalarında yaygın olarak kullanılan yöntemler şunlardır:

Hematoksilen-eozin boyama

Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanan preparatlar ışık mikroskobu ile incelenir. HE hem hücre kültürü çalışmalarında hem de doku boyamalarında kolaylıkla kullanılabilir.

HE boyamada, hematoksilen boyası kromatini boyadığından apoptotik hücreler nukleus morfolojisine göre değerlendirilir. Gözlenebilen değişiklikler şunlardır: hücre küçülmesi veya sitoplazmik küçülme, kromatinin kondanse olması ve nukleus zarının periferinde toplanması, nukleusun küçülmesi veya parçalara bölünmesi (Guo et al., 2021).

Şekil 13 Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler.



Kaynak: (Güleş ve Eren, 2008)

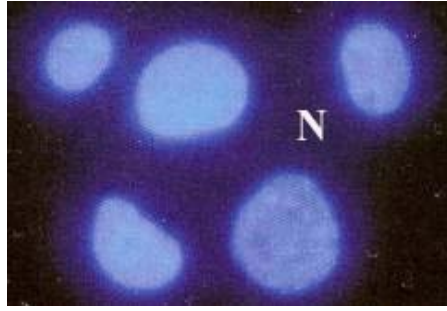
Giemsa boyama

Giemsa ile boyamada, hematoksilen-eozin ile boyamada olduğu gibi nukleus morfolojisi esas alınarak apoptotik hücreler tanınır. Sitoplazma sınırları hematoksilen boyamaya göre daha iyi seçilebilmekle birlikte hematoksilen boyamaya belirgin bir üstünlüğü yoktur (Stefanović et al., 2017).

Floresan mikroskopi

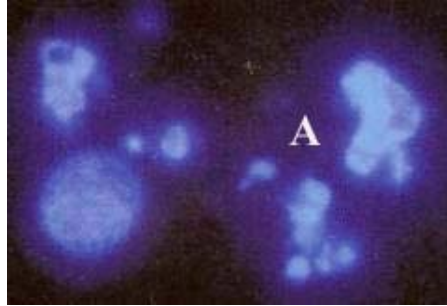
Floresan mikroskopi, floresan maddelerin (örn. Hoechst boyası, DAPI “4,6-diamidine-2’-phenylindole”, propidium iyodür, akridin orange, etidyum bromür, FITC “fluorescein isothiocyanate”) kullanılmasıyla yapılan bir boyama şeklidir. Floresan boyalar DNA’ya bağlanabildiklerinden hücrenin kromatini dolayısıyla nukleusu görünür hale gelebilir. Hücre kültürü çalışmasında kullanılırlarsa, canlı hücre ile yaşayan hücrenin ayırımına olanak tanırırlar (Wen et al., 2017).

Şekil 14 N, Normal hücreler-Hoechst boyama



Kaynak: (Güleş ve Eren, 2008)

Şekil 15 A, Apoptotik hücreler-Hoechst boyama



Kaynak: (Güleş ve Eren, 2008)

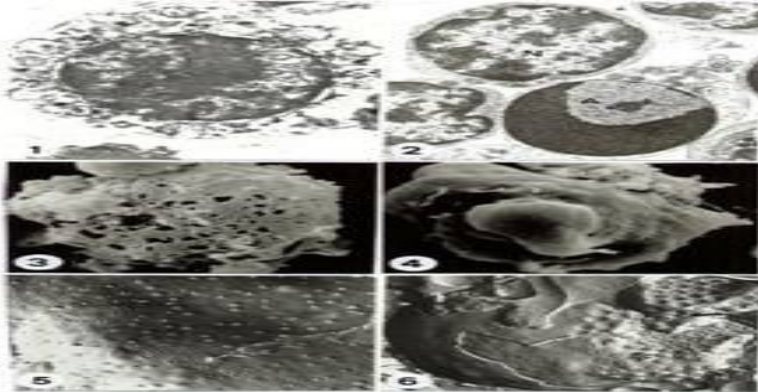
Elektron mikroskop

Morfolojik değişikliklerin en doğru olarak gözleendiği bir yöntemdir. Sitoplazmik küçölme, kromatin kondansasyonu ve fragmentasyonu izlenebilirken, mitokondrinin durumu, hücre zarı ya da nukleus membranının bütönlüğünün bozulup bozulmadığı gibi subsellüler detaylar da incelenebilir (Wen et al., 2017).

Faz kontrast mikroskop

Bu tür mikroskop sadece hücrelerin költür ortamında, hücreyi veya hücre topluluğunu incelemek amacıyla kullanılır. Ölen hücreler yapıştıkları substratumdan (alt tabaka) ayrılacakları için besiyeri içinde yüzmeye başlarlar. Bu hücreler faz kontrast mikroskobu ile gözlenebilirler. Mitoza giden hücreler de faz kontrast mikroskobuyla gözlenebilirler. Fakat bu hücreler aynı zamanda apoptotik hücrelerin erken evredeki görüntüleri ile karışabilirler. O yüzden ayrımları hemen hemen imkansızdır. Faz kontrast mikroskobu ile apoptotik hücreler üzerinde gelişen cepcikler (blebs) izlenebilir (Shimasaki vd., 2024).

Şekil 16 Nekrotik Hücre 2, Apoptotik (A) ve normal (N) hücre 3, Nekrotik Hücre 4, Apoptotik Hücre 5, Normal Hücre 6, Apoptotik Hücre.



Kaynak: (Güleş ve Eren, 2008)

Moleküler ve Biyokimyasal Yöntemler

Anneksin V yöntemi

Normal hücrelerde hücre zarının sitoplazmik yüzünde membran lipidlerinden biri olan fosfatidilserin (PS) bulunmaktadır. Eğer hücre apoptoza giderse normalde iç yüzde yerleşmiş olan PS molekülleri hücre zarının dış yüzüne transloke olurlar. Bu yer değiştirme hücre membran bütünlüğünün bozulmadığı apoptotik hücre ölümünün erken dönemlerinde meydana gelir. Anneksin- V, hücrenin dış yüzeyine transloke olan fosfatidilserine bağlanabilen bir protein olduğu için, floresan bir madde (örn. FITC) ile işaretlenerek apoptotik hücre görünür hale getirilebilir (Miyagishima et al., 2024).

TUNEL yöntemi

TUNEL testi, parçalanmış DNA'nın serbest 3'-hidroksil uçlarını floresan veya kromojenik işaretleyicilerle etiketleyerek apoptozisin bir özelliği olan DNA parçalanmasını tespit eder. Bu yöntem, doku kesitlerinde ve kültür hücrelerinde apoptotik hücreleri görselleştirmek için histoloji ve sitolojide yaygın olarak kullanılır. Ancak, dikkatli yorumlama gerektiren nekrotik hücreleri de tespit edebilir (Sherman et al., 2024).

M30 yöntemi

M30 testi, apoptozis sırasında kaspazlar tarafından aracılık edilen bir süreç olan sitokeratin-18 (CK18) bölünmesinin tespitine dayanır. CK18, epitel hücrelerinde yapısal bir proteindir ve bölünmeye özgü epitopu (M30 antijeni), epitel hücre apoptozu için güvenilir bir belirteç görevi görür. Bu yöntem özellikle karsinomların ve karaciğer hastalıklarının incelenmesinde faydalıdır (Naselli et al., 2024).

Kaspaz-3 yöntemi

Kaspaz-3, apoptozda anahtar bir infazcı kaspazdır ve kromatin yoğunlaşmasına ve DNA parçalanmasına yol açan birden fazla substratı parçalamaktan sorumludur. Kaspaz-3 aktivite testi, immünohistokimya, Western blotting veya floresan tabanlı testler kullanarak parçalanmış kaspaz-3 seviyelerini ölçer ve apoptotik ilerlemenin doğrudan bir göstergesini sağlar (Ge et al., 2024).

Agaroz jel elektroforezi

Agaroz jel elektroforezi, endonükleaz aracılı DNA parçalanmasının neden olduğu apoptozun karakteristik bir özelliği olan DNA basamaklanmasını tespit etmek için kullanılır. Bu yöntemde, apoptotik DNA parçaları boyuta göre ayrılır ve etidyum bromür veya SYBR Green ile boyandığında merdiven benzeri bir desen oluşturur. Bu teknik basit ve uygun maliyetlidir ancak tespit için yeterli sayıda apoptotik hücre gerektirir (Green & Sambrook, 2019).

Western blotting

Western blotting, kaspazlar, Bcl-2 ailesi proteinleri, PARP ayrımı ve sitokrom c salınımı gibi önemli apoptotik belirteçleri belirleyerek apoptozu tespit eden protein tabanlı bir yöntemdir. Proteinler SDS-PAGE ile ayrılır, membranlara aktarılır ve belirli antikorlar kullanılarak tespit edilir. Bu teknik, apoptotik sinyal yollarına ilişkin niceliksel ve nitel içgörüler sağlar (Majtnerova & Roušar, 2018).

Flow sitometri

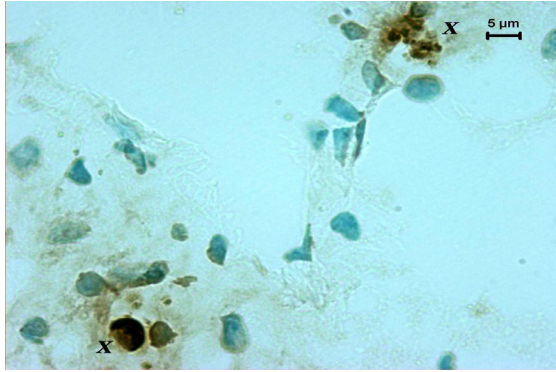
Akış sitometrisi, membran bütünlüğü, mitokondriyal potansiyel ve DNA içeriği gibi hücresel değişiklikleri analiz ederek apoptozu ölçen yüksek verimli bir yöntemdir. Annexin V/PI boyama, erken apoptotik (Annexin V⁺/PI⁻), geç apoptotik (Annexin V⁺/PI⁺) ve nekrotik hücreleri (PI⁺) ayırt etmek için yaygın olarak kullanılır.

Bu teknik, hücre kültürlerinde ve klinik örneklerde apoptozis çalışmaları için yaygın olarak kullanılır (Telford, 2024).

ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay)

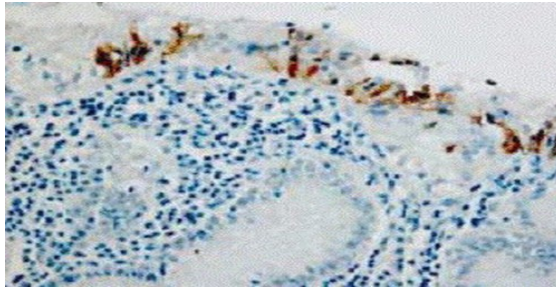
ELISA, hücre lizatlarında veya biyolojik sıvılarda sitokrom c, parçalanmış kaspaz-3 ve DNA-histon kompleksleri gibi apoptotik biyobelirteçleri tespit etmek için kullanılan oldukça hassas bir immünolojik testtir. Apoptozisle ilişkili proteinlerin kantifikasyonunu sağlar ve bu da onu klinik teşhis ve ilaç taraması için değerli hale getirir (Aru & Demirel, 2024).

Şekil 17 Karaciğer dokusunda apoptotik hücreler.



Kaynak: (Güleş ve Eren, 2008)

Şekil 18 M30 CytoDEATH ile pozitifite veren mide mukozasındaki apoptotik epitel hücreler.



Kaynak: (Güleş ve Eren, 2008)

Sonuç

Apoptozis embriyonik gelişimde temel bir rol oynar, uygun doku farklılaşmasını, organ oluşumunu ve kusurlu veya fazla hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlar. Patolojik hasardan kaynaklanan nekrozun aksine, apoptozis hücresel homeostazisi korumak için gerekli olan oldukça düzenlenmiş ve enerjiye bağımlı bir süreçtir. Apoptozisin altında yatan karmaşık moleküler mekanizmalar, hücre sağkalımı ve programlanmış hücre ölümü arasındaki dengeyi topluca koordine eden kaspazlar, Bcl-2 ailesi proteinleri ve mitokondriyal yolları içerir.

Embriyolojide apoptozis, nöral tüp kapanması, uzuv gelişimi ve geçici yapıların ortadan kaldırılması gibi morfogenetik süreçler için kritik öneme sahiptir. Apoptotik düzenlemedeki bozulmalar konjenital anomalilere, gelişimsel bozukluklara ve hastalıklara yol açabilir ve bu da hem normal fizyoloji hem de patolojik koşullardaki önemini vurgular.

Moleküler biyoloji ve görüntüleme tekniklerindeki gelişmeler, apoptozis anlayışımızı geliştirerek üreme biyolojisi, rejeneratif tıp ve hastalık tedavisindeki etkilerine dair daha iyi içgörüler elde etmemizi sağlamıştır.

Geniş kapsamlı önemi göz önüne alındığında, kök hücre biyolojisi, embriyonik gelişim ve terapötik uygulamalarda apoptozla ilişkili mekanizmaları keşfetmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Apoptozun nasıl düzenlendiğini ve manipüle edildiğini anlamak, gelişimsel bozuklukları, kanseri ve dejeneratif hastalıkları tedavi etmede yeni stratejilerin önünü açabilir.

Kaynakça

Akşit, H., Bildik, A., (2008). Apoptozis. *YYÜ Vet. Fak. Derg.* Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye.

Altunkaynak, B. Z., Özbek, E. (2008). Programlanmış hücre ölümü: Apoptoz nedir. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 6(2), 93-104.

Ankara Üniversitesi Açık Ders Kaynakları, erişim adresi: <https://acikders.ankara.edu.tr/>

Aru, B., & Demirel, G. Y. (2024). Flow Cytometry: A Versatile and Powerful Tool for Drug *Discovery and Development*. <https://doi.org/10.62482/pmj.5>

Booth, L., Poklepovic, A., & Dent, P. (2024). Apoptosis. *Elsevier BV*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-822563-9.00120-7>

Costigan, A., Hollville, E., & Martin, S. J. (2023). Discriminating Between Apoptosis, Necrosis, Necroptosis, and Ferroptosis by Microscopy and Flow Cytometry. *Current Protocols*, 3(12), e951. <https://doi.org/10.1002/cpz1.951>

Daşdağ, S., (2014). Apoptozis, Programlanmış Hücre Ölümü, *Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Ders Sunumu*.

Fernández-Lázaro, D., Sanz, B., & Seco Calvo, J. (2024). Mechanisms of programmed cell death: structural and functional pathways. A narrative review. *Investigación Clínica*, 65(2), 230–252. <https://doi.org/10.54817/ic.v65n2a09>

Gao, X., Dong, B., Xiao, J., Wang, J., Song, X., Ji, H., Peng, J., Weng, X., Guo, D., & Jiang, S. (2024). Cytoskeleton disruption and plasma membrane damage determine methuosis of normal and malignant cells. *Research Square (Research Square)*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-5422638/v1>

Ge, W., Wang, H., Wu, X., Dong, B., Lu, Q., & Tian, M. (2024). Unique fluorescent probe for the recognition of late apoptosis via translocation from plasma membrane to nucleus. *Spectrochimica Acta Part a Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 313, 124095. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2024.124095>

Green, M. R., & Sambrook, J. (2019). Analysis of DNA by Agarose Gel Electrophoresis. *CSH Protocols*, 2019(1). <https://doi.org/10.1101/PDB.TOP100388>

Guo, M., Lu, B., Gan, J., Wang, S., Jiang, X., & Li, H. (2021). Apoptosis detection: a purpose-dependent approach selection. *Cell Cycle*, 20(11), 1033–1040. <https://doi.org/10.1080/15384101.2021.1919830>

Güleş, Ö., Eren, Ü. (2008). Apoptozun belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi*. 73–78..

Krasovec, G., Horkan, H. R., Quéinnec, E., & Chambon, J.-P. (2022). The constructive function of apoptosis: More than a dead-end job. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.1033645>

Majtnerova, P., & Roušar, T. (2018). An overview of apoptosis assays detecting DNA fragmentation. *Molecular Biology Reports*, 45(5), 1469–1478. <https://doi.org/10.1007/S11033-018-4258-9>

Mis, L., & Yeltekin, A. Ç. (2014). Apoptosis. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 3(1), 102–112. <https://doi.org/10.17798/beufen.66115>

Miyagishima, K. J., Nadal-Nicolás, F. M., Ma, W., & Li, W. (2024). Annexin-V binds subpopulation of immune cells altering its interpretation as an in vivo biomarker for apoptosis in the retina.

International Journal of Biological Sciences, 20(15), 6073–6089.
<https://doi.org/10.7150/ijbs.102551>

Mosadegh, M., Noori Goodarzi, N., & Erfani, Y. (2025). A Comprehensive Insight into Apoptosis: Molecular Mechanisms, Signaling Pathways, and Modulating Therapeutics. *Cancer Investigation*, 1–26.
<https://doi.org/10.1080/07357907.2024.2445528>

Naselli, F., Naselli, F., Naselli, F., Valenti, R., Naselli, F., Valenti, R., Valenti, R., Naselli, F., & Naselli, F. (2024). An alternative approach of TUNEL assay to specifically characterize DNA fragmentation in cell model systems. *Histochemistry and Cell Biology*. <https://doi.org/10.1007/s00418-024-02306-9>

Öztürk, F. (2002). Apopitoz. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 9(2), 143–148.

Perrotta, I. (2024). Live and let die: analyzing ultrastructural features in cell death. *Ultrastructural Pathology*, 1–19.
<https://doi.org/10.1080/01913123.2024.2428703>

Rana, P. S., & Model, M. A. (2020). A Reverse-Osmosis Model of Apoptotic Shrinkage. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 588721. <https://doi.org/10.3389/FCELL.2020.588721>

Sherman, M. S., McMahon-Skates, T., Gaston, L. S., Majzoub, J. A., & Goessling, W. (2024). Harmonizing terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) with multiplexed iterative immunofluorescence enriches spatial contextualization of cell death.
<https://doi.org/10.1101/2024.09.04.611218>

Shimasaki, K., Okemoto-Nakamura, Y., Kyoko, S., Fukasawa, M., Katoh, K., & Hanada, K. (2024). A high-resolution phase-contrast microscopy system for label-free imaging in living cells. *Cell Structure and Function*. <https://doi.org/10.1247/csf.24018>

Stefanović, D., Samardžija, G., Redžek, A., Arnaut, M., Nikin, Z., & Stefanović, M. (2017). Buffered Romanowsky-Giemsa method for formalin fixed, paraffin embedded sections: taming a traditional stain. *Biotechnic & Histochemistry*, 92(5), 299–308. <https://doi.org/10.1080/10520295.2017.1315456>

Telford, W. G. (2024). Multiparametric Analysis of Apoptosis by Flow Cytometry (pp. 217–257). *Springer Science+Business Media*. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3738-8_10

Tuomela, K., Ambrose, A. R., & Davis, D. M. (2022). Escaping Death: How Cancer Cells and Infected Cells Resist Cell-Mediated Cytotoxicity. *Frontiers in Immunology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.867098>

Walia, R., Madaan, R., Chaudhary, K., Mehta, B., & Bala, R. (2021). Molecular pathways of apoptotic cell death (pp. 79–109). *Academic Press*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815762-6.00003-2>

Weigelin, B., & Friedl, P. (2022). T cell-mediated additive cytotoxicity - death by multiple bullets. *Trends in Cancer*, 8(12), 980–987. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2022.07.007>

Wen, Y., Chen, Z., Lu, J., Ables, E. T., Scemama, J.-L., Yang, Liv. V., Lu, J. Q., & Hu, X.-H. (2017). Quantitative analysis and comparison of 3D morphology between viable and apoptotic MCF-7 breast cancer cells and characterization of nuclear fragmentation. *Plos One*, 12(9). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0184726>

Zuo, Z., Yin, H., Zhang, Y., Xie, C., & Wang, Q. (2023). A cytotoxic T cell inspired oncolytic nanosystem promotes lytic cell death by lipid peroxidation and elicits antitumor immune responses.

Nature Communications, 14(1), 5456.
<https://doi.org/10.1038/s41467-023-41335-1>

