



# Hücre

---

Editör  
Sema BOLKENT



[iuc-universitypress.org](http://iuc-universitypress.org)

**IUC**  
UNIVERSITY  
PRESS



# Hücre

Bu kitap Cumhuriyetimizin kuruluşunun 100. yılı anısına  
“Cumhuriyetin 100. Yılına 100 Kitap Projesi” kapsamında  
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa tarafından yayımlanmıştır.

Editör  
Sema Bolkent

Ocak 2024



## Hücre

**Editör:** Sema BolKent

**Kurum:** İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,  
Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul,  
Türkiye

**E-posta:** bolKent@iuc.edu.tr

## Yayıncı



**Adres:** Üniversite Mahallesi, 34320 İstanbul, Türkiye

**E-posta:** iucpress@iuc.edu.tr

**E-ISBN:** 978-605-7880-48-2

**DOI:** 10.5152/4900

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Yayınevi Seri No: 36

## Yayıncılık Hizmetleri



© 2024. Telif hakkı yazarlara aittir. Bu kitaptaki bölümler açık erişimli olup Creative Commons Atıf 4.0 Uluslararası Lisansı altında dağıtılmaktadır. Bu lisans kullanıcılara, bölümleri herhangi bir amaç için indirme, çoğaltma ve yayımlanan bölümler üzerinde çalışma imkânı sunar. Böylece yayınlarımızın en geniş şekilde yayılmasını ve daha geniş bir etkiye sahip olmasını sağlar.

## Sorumluluk Reddi

Kitapta yayımlanan metinlerin/Bölümlerin ifadeleri veya görüşleri yazar(lar)ın ve editör(ler)in görüşlerini yansıtır. İÜC Yayınevi ve İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa yazarların içeriğinden sorumlu değildir. Yayımlanan kitaplardaki çalışmaların doğru ve iyi araştırılmış olması ve metinlerde ifade edilen görüşlerin tutarlılığı yazar ve editörlerin sorumluluğundadır. İÜC Yayınevi ve İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, yazarlara çalışmalarını bilimsel toplulukla paylaşmak için bir platform sağlamaktadır.

Atıf için: BolKent S. *Hücre*. İstanbul: İÜC Yayınevi; 2024.

# İÇİNDEKİLER

REKTÖRÜN ÖN SÖZÜ .....	IV	Bölüm 9. Hücre Bağlantıları ve Ekstraselüler Matriks .....	51
ÖN SÖZ .....	V	Bölüm 10. Sinyal İletimi .....	61
GİRİŞ.....	VII	Bölüm 11. Hücre İskeleti .....	67
Bölüm 1. Hücre Çeşitliliği ve Genom .....	1	Bölüm 12. Hücre Döngüsü ve Kontrol Mekanizmaları.....	74
Bölüm 2. Hücre Organizasyonu .....	5	Bölüm 13. Hücre Yaşlanması ve Ölümü.....	80
Bölüm 3. Hücre Membranı ve Nukleus .....	9	Bölüm 14. Kök Hücre Biyolojisi .....	86
Bölüm 4. DNA Replikasyonu ve Tamir Mekanizmaları.....	17	Bölüm 15. İmmüno-biyoloji.....	90
Bölüm 5. Kromozom ve Anomalileri .....	22	Bölüm 16. Hastalıkların Hücresel Temeli ve Kanseri .....	95
Bölüm 6. Gen Ekspresyonu ve Proteomik .....	28	Bölüm 17. Hücreyi İnceleme Yöntemleri ve Kişisel Tıp.....	101
Bölüm 7. Organeller .....	35		
Bölüm 8. Hücre Adezyon Molekülleri.....	46		

## REKTÖRÜN ÖN SÖZÜ

Türk milletinin bağımsızlık mücadelesi, 29 Ekim 1923'te Cumhuriyetin ilanı ile taçlanmıştır. Dünya tarihine altın harflerle kazınan büyük bir mücadele sonucu elde edilen şanlı zafer, Türk milletinin hür ve bağımsız yaşama kararlılığı ile çıktığı yolda; inanç, cesaret, güven ve sınırsız fedakârlıkla gösterdiği eşsiz kahramanlıkların eseridir. Egemenliğin kayıtsız şartsız millete teslim edildiği Türkiye Cumhuriyeti, Millî Mücadele'mizin önderi Gazi Mustafa Kemal Atatürk'ün milletimize en büyük armağanıdır.

Cumhuriyetin kazanımlarını koruma ve milletimizin muasır medeniyetler seviyesine ulaşma hedefinde, eğitim ve bilim her zaman en büyük rehberdir. Bu hedeflerin gerçekleştirilmesinde ise en büyük sorumluluk kuşkusuz üniversitelere düşmektedir.

Ülkemizin köklü ve öncü üniversiteleri arasında yer alan İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa; bilimsel yaklaşımı benimseyen, bilgi üreten ve uygulamalarıyla toplumun gelişmesine katkıda bulunmayı ilke edinen bir araştırma üniversitesidir. Cumhuriyet değerlerine bağlı bir yükseköğretim kurumu olarak Cumhuriyetimizin 100. yılına ithafen akademisyenlerimizin iş birliğiyle "*Cumhuriyetin 100. Yılına 100 Kitap*" projesini hayata geçiriyoruz. Proje kapsamında, akademisyenlerimizin kendi uzmanlık alanlarıyla ilgili kaleme aldıkları ve "İÜC Üniversite Yayınevi" tarafından basılan kitaplar, açık erişimle tüm toplumun faydasına sunulmaktadır. Sağlıktan mühendisliğe, sosyal bilimlerden eğitime kadar pek çok alanda hazırlanan 100 kitap; eğitim-öğretim materyali, ders kitabı olarak kullanılabilen gibi araştırma geliştirme kapsamında yararlanılacak kaynak olarak da kullanılabilir nitelikteki kitaplardan oluşmaktadır.

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa olarak köklü geçmişimizden aldığımız güçle Cumhuriyetimizi nice yüzyıllara taşımak için var gücümüzle çalışmaya ve üretmeye devam ediyor, 100. yılını kutladığımız Cumhuriyet'in kurulmasında emeği geçen tüm kahramanlara adadığımız "*Cumhuriyetin 100. Yılına 100 Kitap*" projemizi; tüm akademisyenlerin, öğrencilerin ve araştırmacıların kullanımına sunuyoruz.

Rektör  
Prof. Dr. Nuri AYDIN  
29 Ekim 2023

## ÖN SÖZ

Kitap moleküler biyoloji teknikleriyle tanımlanan güncel hücre yapısı ve işlevlerinin anlaşılmasının yanı sıra gelişen hücresel bozuklukların klinik yansımalar ile ilişkilendirilmesini amaçlamaktadır. Kitabın içeriği Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ders konuları temel alınarak hazırlanmıştır.

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nin değerli yöneticilerine, Cumhuriyetimizin 100. yılında 100 kitap projesi kapsamında, bu kitabın yayınlanmasına sağladıkları destek için teşekkür ederim.

Bugüne gelmemde büyük emekleri olan sevgili aileme, değerli öğretmenlerime ve bilim yolumu aydınlatan tüm bilim insanlarına en içten teşekkürlerimi sunarım. Kitabın ön okumasını yapan Prof. Dr. Şehnaz Bolkent ve Prof. Dr. Meral Koyutürk sayesinde eserin daha anlaşılır olduğuna inanıyorum.

Kitabın görsellerinin çizimini yapan tıbbi ressam Buket Serdar Yörükçüler'e özel olarak teşekkür ederim.

Bu kitabın canlı bilimine ilgi duyan herkes için faydalı ve ufuk genişletici olması dileklerle...

**Prof. Dr. Sema BOLKENT**

*Annem Yurdağül Bolkent ve Babam Şevket Bolkent'e Adanmıştır...*



# GİRİŞ

Hayatın başlangıcı olan ilk hücreden itibaren insan yaşamı trilyonlarca hücrenin eşsiz işleyişi ile devam eder. Bu nedenle, Tıp Fakülteleri ve Sağlık Bilimleri alanındaki eğitimler insan vücudunun en küçük parçası olan hücrenin yapısının, işleyiş mekanizmalarının ve hastalıklarla gelişen değişiminin anlaşılmasını amaçlayan Tıbbi Biyoloji dersi ile başlar ve hücreye ait tüm konular belli bir sırada incelenerek tartışılır. Hazırladığım Hücre kitabında da bu amaçla konu başlıkları 17 ana bölüm altında toplanmıştır. Her bölümün başında aklımızda kalacaklar için özet bilgi verilirken sonunda klinik önemi vurgulanmıştır. Bilgi üretim ve erişim hızının arttığı günümüzde büyük emek gerektiren yazılı kaynakların hazırlanması aynı hızla gerçekleşmemektedir. Kitapların yayına hazırlık aşamasında bile bazı bilgilerin değişebilmesi söz konusudur. Bu sebeple Hücre kitabındaki temel bilgilerin güncel bilgilerin ışığında sunulmasına gayret edilmiş, ileri düzey bazı konuları düşündürmek için de detaylı moleküler mekanizmalar paylaşılmıştır. Bu kitabın Tıp Fakültesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Eczacılık Fakültesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü öğrencilerine ve konuyla ilgilenen tüm meslektaşlarımıza yararlı olmasını diliyorum.

# **BÖLÜM 1**

## **HÜCRE ÇEŞİTLİLİĞİ VE GENOM**

# Hücre Çeşitliliği ve Genom

## Cell Diversity and Genome

### BÖLÜM HAKKINDA

Çok hücreli organizmaların yapıtaşısı olan her bir hücre diğer hücrelerle bağlantılı şekilde organizmanın bir bütün olarak iş görmesini sağlar. Her hücre tüm bileşenlerinin yapımını sağlayan genetik bilgiye sahiptir. Ökaryot genomunda çok sayıda tekrarlayan DNA dizileri bulunur. Her bireyin genomu diğerinden %0.1 farklıdır. İnsana ait genin %90'ından fazlasını kodlamayan diziler olan intronlar oluşturur. Bazı DNA dizileri protein kodlamayan RNA'lara çevrilir. Rutin genom dizilim analizlerinin yapılması hastalıkların önlenmesinde ve kişiye özgü ilaç gelişiminde önemlidir.

**Anahtar kelimeler:** Hücre çeşitliliği, ortak hücre özellikleri, genom, tekrarlayan DNA dizileri

### ABOUT the CHAPTER

Each cell, the building block of multicellular organisms, enables the organism to function as a whole in connection with other cells. Each cell has genetic information, which includes the production of all its components. There are many repetitive DNA sequences in the eukaryotic genome. The genome of each individual is 0.1% different from the other. More than 90% of the human gene comprises introns, which are non-coding sequences. Some DNA sequences are translated into non-protein-coding RNAs. Routine genome sequencing analysis is important in the prevention of diseases and the development of personalized drugs.

**Keywords:** Cell diversity, common cell characteristics, genome, repetitive DNA sequences

Canlı çeşitliliğinin temelinde benzer olan hücrelerden oluşumun yanı sıra **bireysel eşsizlik** göze çarpmaktadır. Çok hücreli organizmalar tek bir döllenmiş yumurta hücrelerinin kalıtsal materyalinden gelişmektedirler. İnsan vücudunu oluşturan  $\sim 3 \times 10^{13}$  hücre topluluğunda *400'den fazla farklılaşmış hücre çeşidi* bulunmaktadır. Hücrelerin boyutu veya şekilleri değişkendir örneğin; lökositler yuvarlak iken nöronların uzantıları vardır veya epitel hücreleri apikal ve bazolateral yüzeylere sahiptir. İnsan hücre çapları ortalama 10-100  $\mu$  arasında değişmektedir. Hücreler kalıtsal bilgiyi adenin, timin, guanin, sitozin bazlarının farklı dizilimi ile bir pentoz ve fosfat grubunun oluşturduğu nükleotit tekrarlarından meydana gelen çift sarmal yapıdaki deoksiribonükleik asit (DNA)'de saklar. DNA'nın kalıtsal materyal olarak kabul edilmesi ilk kez 1944'te yayınlanan transformasyon çalışmaları ile olmuştur. Bazı virüslerde kalıtsal materyal DNA yerine ribonükleik asit (RNA)'tir. Nükleusda yer alan kromozom yapısı dışında DNA, sitoplazmada *mitokondri* ve *kloroplastlarda* bulunur. **DNA** organizmada RNA ve proteinlerin yapılabilmesi için gerekli tüm genetik bilginin depo edildiği ölümsüz moleküldür. **Gen** olarak adlandırılan DNA'nın belirli kısımları belirli proteinlerin sentezinden sorumludur. Genler organizmanın yaşamsal fonksiyonlarını düzenlemenin yanı sıra nesilden nesile aktarımında temelini oluşturur. Tek hücreli olan bakteri DNA'sına ait parçaların insanda okunup işlenebilmesi genetik bilginin *işlenebilirliğini* göstermektedir. Kromozomlarda saklanan bu eşsiz bilgi replikasyon ile iki katına çıkar ve iki yavru hücreye aktarılarak hücrenin çoğalmasında ve fonksiyonlarını gerçekleştirmesinde iş görür.

Aslında hücre biyolojisi  $\sim 350$  yıl önce R. Hooke adlı bilim insanının X30 objektif büyütme mikroskop altında "Cellula" **hücre** tanımını yapması ile başlamıştır. H.J. Dutrochet ise bitki ve hayvan dokularını karşılaştırmalı olarak incelemiş ve bu dokuların birtakım yapıdırma kuvvetleriyle bir arada tutulan küçük hücrelerden oluştuğunu yazmıştır. Bu açıklama Hooke'un yayınından 150 yıl kadar sonradır. R. Brown bitki hücrelerinin içerisinde daha



yoğun yuvarlak bir kısım bulunduğunu gözlemlemiş ve bu yapıya *nukleus* (*çekirdek*) adını vermiştir (1831). Bütün organizmalarda tüm genetik bilgiyi taşıyan **genom** ile ilgili bilgilerimiz ise son 75 yılda artmıştır. Tek hücreli mayalar ökaryotik hücre incelemeleri için en basit model organizmalardır. Çok hücreli *Caenorhabditis elegans* ise hücre farklılaşması çalışmaları için tercih edilen, mayanın üç katından fazla ~19.000 gen içeren nematod modelidir. Bakterilerin çoğunda birkaç bin, mayalar ve diğer tek hücreli ökaryotlarda ise ~5000 protein kodlayan gen bulunur. En basit bakterinin (*Mycoplasma genitalium*) ~400 gen ile hayatta kalabileceği bilinmektedir. En karmaşık memeli organizma olan **insan genomu** ise ~3 milyar baz çifti (bc) ve ~20.000 protein kodlayan gen içerir. Vücudumuzda neredeyse tüm hücreler insan genlerinin tamamını içermesine rağmen her hücre tipinde *sadece bazı genlerin aktif veya açık olması* nedeniyle o **hücreye özel proteinler** sentezlenir.

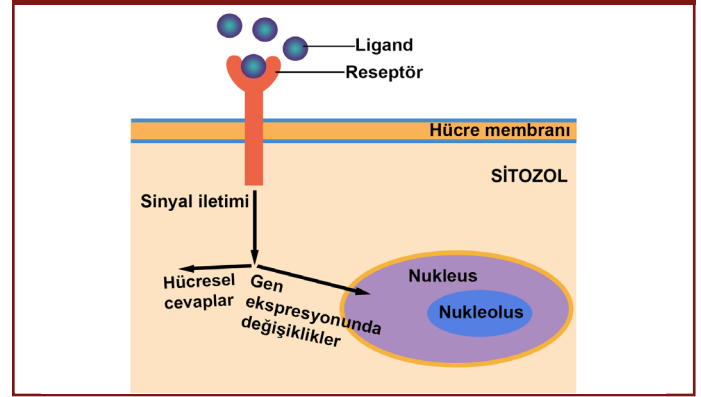
Organizmalar arasında temel benzerlikler değerlendirildiğinde, dış farklılıklarından ziyade moleküler seviyedeki benzerlikler göz alıcıdır. Örneğin, DNA'da depolanan kimyasal kodlar, üç boyutlu RNA ve proteinleri oluştururlar. Çok hücreli organizma sistemlerinin düzgün çalışması için hücrenin iç ortamının homeostazı yani dengesi gereklidir. Bu iç denge çift lipit tabakası ve proteinlerden oluşan yarı geçirgen hücre membranı ile sağlanır. Hücre membranı hücre iç ortamını hücreler arası maddenin yer aldığı dış ortamdır. Lipidin en önemli özelliği amfipatik olması yani baş kısmının hidrofobik, kuyruk ucunun ise hidrofobik yapıda olmasıdır. Membran proteinleri **reseptörler** olarak hücrenin dış sinyallere cevap oluşturmasında, membrandan moleküllerin seçici taşınmasında, elektron taşınmasında ve oksidatif fosforilasyonda iş görürler. Protein monomerleri olan amino asitler, dört çeşit olan DNA veya RNA monomerlerinden farklı olarak 20 çeşitlidir. Protein molekülleri, kovalent bağları oluşturan veya parçalayan reaksiyonları katalize eden **enzimler** olarak da iş görebilirler. Moleküler geri bildirim mekanizmaları hücrenin içeriği, büyümesi ve farklılaşmasını kontrol ederler. Ökaryotik hücrelerde nukleus çift membranlı, hücreyi sitoplazma ve nukleus olarak iki ana kısma ayırmaktadır. Nukleusda RNA sentezi ve işlenmesini takiben olgun messenger (haberci) ribonükleik asit (mRNA)'lerin sitoplazmaya geçişinde nukleus membranı iş görür.

## Hücrelerin Ortak Özellikleri

Tüm organizmaların kaynağı tek hücredir. Bütün hücreler şeker, amino asit, nükleotit gibi monomerleri ile biyokimyasal fabrikalar gibi çalışarak fonksiyonlarını gerçekleştirirler. Her hücre kimyasal şekilde genetik bilgiyi **DNA** molekülünde saklar, ancak belirli virüslerin RNA'dan yapılmış genleri vardır. Kromozom adı verilen şekillenmiş uzun DNA molekülleri hücrenin büyümesi, çoğalması ve fonksiyonlarını yapabilmesi için gerekli bilgileri depolar. DNA'dan bilgi **RNA** molekülüne çevrilir. Olgun mRNA molekülünden ise **protein** molekülleri sentezlenir. Bazı DNA dizileri protein kodlamayan RNA'lara örneğin; transfer RNA'lar, mikroRNA'lar ve ribozomal RNA'lara çevrilir. Hücrelerde gerçekleşen kimyasal reaksiyonlar için serbest enerji taşıyıcısı olarak **ATP** (adenozin trifosfat) kullanılır. Adenozin difosfat (ADP)'dan ATP sentezi için gerekli olan enerji ( $\Delta G^{\circ} = -7.3 \text{ kcal/mol}$ ) besinlerin kimyasal bağlarından ve güneş ışığından elde edilir. Ayrıca hücrelerin yaşamları için dışardan madde alışverişinde ve atıkların hücre dışına verilmesinde seçici **hücre membranı** önemli rol oynar. Membran, hücreye fiziksel sınır çizerek kimyasal işlemlerin gerçekleştiği bir

ortam oluşturur. Moleküler bileşenlerin üretimi (anabolik yollar) ve parçalanması (katabolik yollar) hücre homeostazı için çok önemlidir. Lipit ve proteinlerden oluşan hücre membranı önceden var olan membranların genişlemesi ile büyür. Membran için hidrofobik ortamında **taşıyıcı proteinler** molekül ve iyonların geçişi için hidrofobik bir geçiş yolu sağlarlar. Mitokondri ve endoplazmik retikulum (ER) gibi membranla çevrili organeller mevcut organellerin bölünmesi ve büyümesi ile çoğalır. ER, membran biyogenezinde fosfolipit sentez yeri olarak önemli rol oynar. Ayrıca protein ve nükleik asitler *özel tanıma sinyalleri* içerirler. Sinyal reseptör eşleşmesi ile hücre bileşenleri hücre içindeki yerleşimlerine taşınırlar. Hücre dışı ligandlar ile reseptörlerin uyarılması sonucu çeşitli sinyal iletim mekanizmaları aktifleşir ve gen ekspresyonunda değişiklikler, enzim aktivitesi gibi çeşitli hücresel cevaplar oluşur (Şekil 1). Reseptörler ve **sinyal mekanizmaları** hücrelerin çevre koşullarına uyum sağlamasında iş görürler. Çoğu küçük molekül sitoplazmaya membran kanallarından difüzyonla taşınırken, konsantrasyon gradientine karşı taşımada membran pompaları iş görür veya hücre bileşenleri motor proteinler yardımı ile taşınırlar.

Şekil 1. Hücre sinyalleşmesi ile oluşan çeşitli hücresel cevaplar



## Genom

Genetikçi H. Winkler 1920'de **gen** ve **kromozom** kelimelerinden oluşan **genom** terimini kullandı. Genom, haploid bir kromozom setindeki tüm DNA'yı ifade eder. T.H. Roderick (1986) **genomik** terimini genom çalışmaları için kullanmıştır. *Escherichia coli* bakterisi genomu  $4.6 \times 10^6$  bc ve ~4200 protein kodlayan gen içerir. DNA dizisindeki protein kodlayan ve sonlanma kodunu içermeyen bölümler bilgisayar analizleri ile açık okuma çerçeveleri olarak saptanmaktadır. Bakteri genomunun ~%90'ı protein kodlayan dizidir. Tek hücreli ökaryot olan *Saccharomyces cerevisia* adlı mayanın genomu ise  $12 \times 10^6$  bc'den oluşmakta ve ~6000 protein kodlayan gen içermektedir. Maya DNA'sının ~%70'i protein kodlayan dizi içerir. Basit çok hücreli model organizmalardan *C. elegans* %25, *Drosophila melanogaster* ise %10 oranı ile bakteri ve mayadan daha az protein kodlayan dizi ve daha çok kodlamayan diziye sahiptir. İnsan genomu ~20.000 protein kodlayan gen içerir ve DNA'nın sadece %1-1.5'lük kısmının protein kodlayan dizi içerdiği bulunmuştur. 20.000 genden ~6000'i çeşitli hücre tipleri için ortaktır. İnsan, fare, tavuk ve zebra balığı genom karşılaştırması sonucunda omurgalılar için ortak 10.660 protein kodlayan gen bulunmuştur. İnsan genlerinin fare ve sıçan ile %90'ı ortak olduğundan tıp alanındaki araştırmalarda bu hayvanlar model organizmalar olarak kullanılmaktadır. İnsan ve şempanze genom dizileri ise %99 ortaktır, değişiklikler

protein kodlayan gen dizilerinde yer alır. Neandertal ile günümüz insanı arasındaki benzerlik ise %99.9'dur ve bu %0.1'lik değişiklik insanda ~90 genin kodlamasını değiştirmektedir. Günümüzde genomik verilerin tıp alanında kullanılmasına örnek olarak, akciğer tümör biyopsilerine uygulanan gen ekspresyon dizi analizinin değerlendirilmesi ile prognozun belirlenmesi ve tedavi protokolünün düzenlenmesi verilebilir.

Genom Projesi [2003] ile farklı bireylerin 5' 3' yönünde dizilenen genomları, bireysel genom dizi karşılaştırmaları için referans dizi olarak kullanılabilir. Neredeyse tüm hücrelerimiz genomun iki kopyasını içerir. Genomun fonksiyonel elemanları protein kodlayan genleri, kodlamayan RNA genlerini, transkripsiyon düzenleme bölgelerini ve korunmuş elemanları içerir. **Protein kodlayan genler** diğer genlerle benzerliklerine göre gen aileleri olarak örneğin; immünooglobulin veya histonlar gibi gruplandırılabilir. Gen aileleri gen duplikasyonu ile ortaya çıkar. Bunlar tek bir küme veya birden çok küme halinde genom içinde dağılırlar. **Kodlamayan RNA (nc-RNA) genleri**; akrosentrik kromozomların kısa kollarında bulunan ribozomal RNA (**rRNA**)'lar (18S, 28S, 5S, 5.8S), %50'sinden fazlası 1. ve 6. kromozom olmak üzere tüm genom boyunca dağılan amino asitleri ribozoma taşıyan transfer RNA (**tRNA**)'lar; küçük nukleolar RNA (**snRNA**)'ların çoğu RNA+protein kompleksi olan splayozom'dur; küçük nukleolar RNA (**snoRNA**) snRNA ve tRNA'ları işler; mikro RNA'lar (**miRNA**) gen ekspresyonunu düzenleyen tek sarmallı RNA molekülleri, aktif olmayan X'e bağlanarak transkripsiyonu engelleyen ve **Xist** olarak adlandırılan uzun kodlamayan RNA (**lncRNA**) gibi çeşitli protein kodlamayan RNA'ları kapsar. İnsan hücrelerinde protein kodlayan genlerin dışında çok fazla sayıda 50.000 gibi lncRNA tanımlanması kodlamayan RNA'ların gen ekspresyonunun düzenlenmesindeki önemine işaret etmektedir. Bazı kodlamayan RNA'lar psödogen adı verilen DNA dizilerine karşılık gelir. **Psödogen** mutasyonlar ile etkisiz hale gelmiş, protein kodlama yeteneklerini kaybetmiş ve işlevsel fonksiyonu olmayan genlerdir. Örneğin, immünooglobulin gen ailesi 1151 gen ve 335 psödogen içerir. İnsan genomunda 11.000 psödogen tanımlanmıştır.

Ökaryot genomunda çok sayıda **tekrarlayan DNA dizileri** bulunur. Bunlar insan genomun %2-3'ünü kapsayan ~300 baz uzunluğunda Alu tekrarlarının yanı sıra daha nadir tek veya iki, üç bazlık basit dizi tekrarlarından oluşur. 1-500 nükleotit içeren **ardışık tekrarlayan** binlerce kopyadan oluşan **basit dizi tekrarları** insan genomunun ~%10'unu kapsar. İnsanda A/T bakımından zengin 171 bç'den oluşan  **$\alpha$ -satellit** DNA basit dizi tekrarları ise sentromer yapısında bulunur. En çok görülen tekrar türü genom üzerinde hareket edebilen **transpozon** olarak adlandırılan DNA dizisidir. Retrotranspozonlar yani yer değiştirmeleri ters transkripsiyon aracılığı ile olan ardışık olmayan serpiştirilmiş tekrar dizileri insanın genomunun ~%45'ini kapsar ve her bir genomda yüz binlerce kopya olarak bulunur. Retrotranspozonların en sık görülen iki ana sınıfı **kısa serpiştirilmiş eleman (SINE)**'lar veya **uzun serpiştirilmiş eleman (LINE)**'lar ters transkripsiyon ile genomda yeni bir kromozom bölgesinde yer alabilirler. Bu her iki transpozon katıldığı genlerin transkripsiyonunu uyarabilir veya baskılayarak mutasyon nedeni olabilir. LINE ve SINE'lerin kodlayan veya düzenleyici dizilere etkisi ile oluşan mutasyonlar kistik fibrozis, kas distrofisi, hemofili ve birçok kanser ile ilişkilendirilmiştir. Bu hareketli elemanların yer değiştirmeleri ile oluşan mutasyonlar yanı sıra tekrarlayan diziler arasındaki rekombinasyon yaşamın kendini yeniden biçimlendirmesi olan türlerin evriminde faydalı olabilir. Üçüncü sınıfı oluş-

turan, yapısal olarak retrovirüslere benzeyen **retrovirus benzeri elemanlar** genom içinde ters transkripsiyon ile hareket etmelerini sağlayan ters transkriptaz ve integraz enzimlerini kodlarlar fakat hücreden hücreye yayılmamaları nedeniyle retrovirüslerden ayrılırlar. İnsan genomunda serpiştirilmiş tekrarlayan dizilerin dördüncü sınıfı **DNA transpozonlar** ise ters transkripsiyon ile hareket etmezler, genom içinde kopyalanan elemanlar tekrar DNA'ya katılarak hareket ederler. İnsan genomunda yaygın tekrarların tam olarak nedeni bilinmese de kararsız transpozonlar farklı genlere eklendiklerinde çeşitli semptomları olan kalıtsal hastalıklara yol açabilirler örneğin, Rett sendromu.

Ökaryotik genlerin protein kodlama dizileri olan ekzonlar, kodlamayan diziler olan intronların araya girmesi ile ayrılırlar. İnsana ait genin %90'ından fazlasını intronlar oluşturur. Ökaryotlarda intronların sıklığı genomik boyutun artmasına ve kompleksliğe neden olmaktadır. Bazı proteinler veya RNA'lar büyük genlerin intronları içinde kodlanırken, diğer intronlar transkripsiyonu düzenleyici diziler içerir ve alternatif kesime izin verirler. Transkripsiyon düzenleme bölgeleri başlatıcılar (promoters), hızlandırıcılar (enhancers), susturucular (silencers) ve lokus kontrol bölgelerini kapsar.

İnsan proteinlerinin %40'ından fazlası daha basit ökaryot olan maya (*S. cerevisiae*), meyve sineği (*Drosophila*) ve bir nematod olan *C. elegans*'da bulunan proteinler gibi DNA replikasyonu, onarımı, transkripsiyonu ve translasyonu gibi temel hücresel fonksiyonlarda işlev görmektedir. İnsan kromozomal DNA'sının %98.5'i kodlamayan DNA'dan oluşmakta ve bireyler arasında benzerlik gösterse de aynı değildir. Bir kişide en az 5 milyon dizi varyantı (farklılığı) ve çok az kişide saptanan çok nadir varyantlar bulunmaktadır. Aslında rastgele seçilen iki kişinin %99.9 aynı diyetiye sahip olmasına rağmen hiçbir bireyin genomu diğeri ile aynı değildir.<sup>1-10</sup>

#### Klinik Önemi

Gen ekspresyon dizi analizleri ile tümörlerin prognoz tayini ve tedavisi yapılmaktadır.

Kararsız transpozonlar farklı genlere eklendiklerinde örneğin, Rett sendromu oluşumuna katkıda bulunabilir.

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Declaration of Interests:** The author declares that she has no competing interest.

#### Kaynaklar

1. Alberts B, Heald R, Johnson A, et al. *Molecular Biology of the Cell*. 7th Ed. New York: W. W. Norton & Company, 2022.
2. Brown TA. *Genomes*. 3rd Ed. New York, Garland Science Publishing, 2007.
3. Misteli T. The Self-Organizing Genome: Principles of Genome Architecture and Function. *Cell*. 2020;183(1): 28-45. [\[Crossref\]](#)

4. Pollard TD, Earnshaw WC, Lippincott-Schwartz J, Johnson GT. *Cell Biology*. 3rd Ed. Philadelphia, Elsevier, 2017.
5. Mueller RL. Genome Biology and the Evolution of Cell-Size Diversity. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015; [\[Crossref\]](#)
6. Lewis R. Human *Genetics Concepts and Applications*. 11th Ed. New York, McGraw-Hill Education, 2015.
7. Vickaryous MK, Hall BK. Human Cell Type Diversity, Evolution, Development, and Classification with Special Reference to Cells Derived from the Neural Crest. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2006;81(3): 425-55.
8. Kierszenbaum AL, Tres LL. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*. 5th Ed. USA, Elsevier, 2020.
9. Meng Y, Yi X, Li X, et al. The Non-Coding RNA Composition of the Mitotic Chromosome by 5'-tag Sequencing. *Nucleic Acids Res*. 2016;44(10):4934-46. [\[Crossref\]](#)
10. Zhao B, Wu Q, Ye AY, et al. Somatic LINE-1 Retrotransposition in Cortical Neurons and Non-brain Tissues of Rett Patients and Healthy Individuals. *PLoS Genet*. 2019;11;15(4):e1008043. [\[Crossref\]](#)

# **BÖLÜM 2**

# **HÜCRE ORGANİZASYONU**

# Hücre Organizasyonu

## Cell Organization

### BÖLÜM HAKKINDA

Canlılar DNA dizilerinin karşılaştırılması sonucu bakteriler, arkeler ve ökaryotlar olarak üç ana gruba ayrılır. Bir prokaryot hücre, membran ile çevrili tek bir bölümden oluşur. Bir ökaryot hücrenin sitoplazması içinde membranla çevrili organeller farklı işlevler için ayrı bölümler oluşturur. Hücre polaritesi hücre iskeleti elemanları ve hücre içi organellerin asimetrik dağılımı ile ortaya çıkar. Polarize hücreler farklı yüzey membran farklılaşmalarına sahiptir. Çok hücreli bir organizma belirli işlevler için özelleşmiş çok farklı hücre çeşidi içerir.

**Anahtar kelimeler:** Prokaryot hücre, ökaryot hücre, hücre polaritesi

### ABOUT the CHAPTER

Living things are divided into three main groups: bacteria, archaea and eukaryotes as a result of comparing their DNA sequences. A prokaryotic cell consists of a single section surrounded by a membrane. Membrane-enclosed organelles within the cytoplasm of a eukaryotic cell form separate compartments for different functions. Cell polarity is revealed by the asymmetric distribution of cytoskeletal elements and intracellular organelles. Polarized cells have different surface membrane differentiations. A multicellular organism contains many different types of cells specialized for certain functions.

**Keywords:** Prokaryotic cell, eukaryotic cell, cell polarity



Hücre karbohidratlar, lipitler, proteinler ve nükleik asitleri içeren organik moleküllerin yanı sıra su ve inorganik iyonlardan oluşur. Bir hücrenin temel yapısal özellikleri için genetik kod bilgisinin **translasyonu** gereklidir. Ayrıca hücre içi ve dışı arasındaki iletişimin kontrolü için **hücre membranına**, kompleks bileşenlerin yapımı için de **enerji** kullanımına gereksinim vardır. Ökaryotik hücrede mikrotübüller, mikrofilamentler ve ara filamentlerden oluşan hücre iskeleti organellerin yerinde tutulması ve hareketleri dahil çeşitli hücre içi organizasyonlarda önemli rol oynar. Örneğin, ökaryotik hücre mitoz bölünme ile benzer iki yavru hücreyi oluştururken iğ ipliklerinin oluşumu için mikrotübüller yeniden organize olurlar. Ökaryotik hücreler hücre iskeleti elemanları ve hücre içi moleküllerin asimetrik dağılımı sonucu **polarite** gösterirler. Epitel hücrelerinin apikal ve bazolateral yüzeyleri birbirinden farklı içerikleri ile bir polariteye sahiptir. Hücre polaritesi hücre bölünmesi, hücre ölümü, hücre göçü ve hücre farklılaşması gibi çeşitli fonksiyonların sürdürülmesinde önemlidir. Hücresel yeni yapıların organizasyonu genellikle önceden var olan yapıların konumlarına göre şekillenir. Yani hücreler *pozisyonel bilgiye* sahiptir. Örneğin, polarize hücrelerin farklı yüzey membran farklılaşmaları çeşitli hücresel işlevlerde önemli rol oynar. Polarize membran proteinlerinin hatalı hücre içi dağılımı *inklüzyon (I) hücre hastalığı* ve *kistik fibrozis* gibi hastalıklara yol açabilir. Polikistin membran proteinindeki mutasyonlar ise epitel polarite hastalığı olan *polikistik böbrek hastalığına* neden olur.

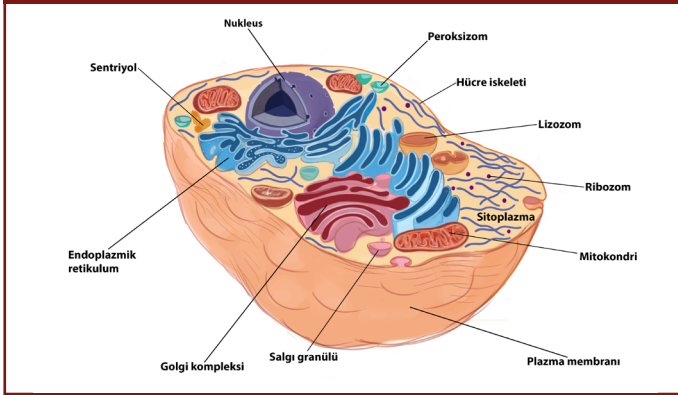
Organizmalar hücrelerinin yapısal farklılıklarına göre temelde **prokaryotlar** (bakteriler ve arkeler) ve **ökaryotlar** (protistler, mantarlar, bitkiler ve hayvanlar) olmak üzere iki büyük gruba ayrılır. Prokaryotik hücreler tek bir bölüm içinde genetik materyali ve gen ekspresyon ürünlerini birlikte içerirler. Tek bir membranla çevrilidirler. Oysa ökaryotik hücreler en az iki bölümden, membran ile çevrili hücre sitoplazması ve genetik materyali içeren nukleusdan oluşurlar (Şekil 1). Bakteriler membranla çevrili organeller gibi özel





işlevleri olan bölümlere sahip olmasalar da, sitozoldeki protein birikimleri prokaryot hücrelerinde bir iç organizasyona sahip olduğunu göstermektedir. **Sitozol** kelimesi hücre iskeleti elemanları, membranlar, organeller hariç sitoplazmadaki sıvı ortamı tanımlamak için kullanılır.

Şekil 1. Ökaryotik bir hücre

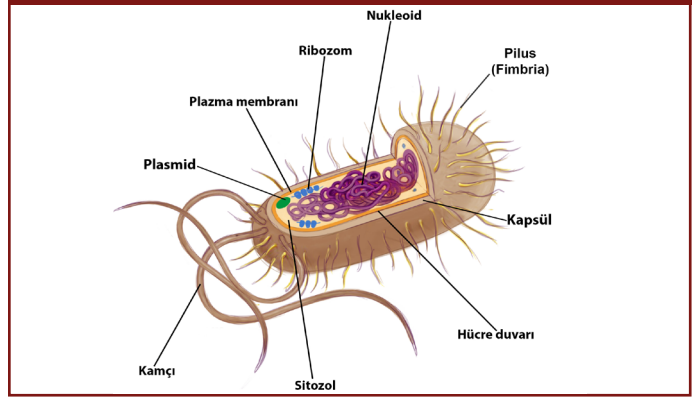


Ökaryotik hücrelerin toplam hacminin neredeyse yarısı membranla çevrili organeller olan endoplazmik retikulum, Golgi kompleksi, mitokondri, lizozom, peroksizom ve nukleusdan oluşur. Membranla çevrili organeller, sitozolden farklı olarak protein, DNA gibi makromoleküllerin hücre içinde yüksek konsantrasyonda tutulmasını sağlarlar. Ökaryotik hücrelerde organellerin membran ile kaplı olması iyonik ve enzimatik iç ortamın sürekliliğini sağlar. İyonların veya küçük moleküllerin konsantrasyonları her sitoplazmik organel içinde sitozolden farklılık gösterir. Örneğin; mitokondride pH 8 ve  $Ca^{2+}$  konsantrasyonu  $\sim 10^{-3}$  M iken, sitozolde pH 7.4 ve  $Ca^{2+}$  konsantrasyonu  $\sim 10^{-8}$ - $10^{-7}$  M olarak saptanır. Ayrıca membranlar biyokimyasal reaksiyonlar için özel ortamların oluşmasını örneğin; nukleusta RNA sentezinin, sitoplazmada protein sentezinin gerçekleşmesini sağlarlar. Organellerin toplam membran alanı ile kıyaslandığında hücreyi çevreleyen çeşitli hayati fonksiyonlara sahip plazma membranı çok küçük bir alana sahiptir. Ökaryotik hücre toplam membran alanının yaklaşık yarısı endoplazmik retikulum membranlarından oluşur. Hücre membranının çift lipit tabakası çoğu hidrofilik molekülü geçirmezken, her organel membranı belirli metabolitleri içeriye almak ve dışarı vermek için gerekli membran taşıyıcı proteinleri sayesinde eşsizdir.

Prokaryotlar genellikle proteinlerle birlikte dairesel bir kromozoma yani *nukleoid* yapısına sahiptirler. Prokaryot ve ökaryot arasında en önemli fark ökaryotik hücrelerin membran ile çevrili bir nukleusa sahip olmalarıdır. Oysa prokaryotik hücrelerin nukleusdan yoksun olmaları yerine *günümüzde moleküler kriterler* örneğin; protein sentezi (translasyon) işleminde kullanılan rRNA'lar gibi RNA, DNA ve protein moleküllerinin benzerlikleri ile organizmaların tanımlanması kabul görmektedir. DNA dizilerinin karşılaştırılması sonucu canlılar; *bakteriler*, *arkeler* ve *ökaryotlar* olarak üç ana gruba ayrılmaktadır. Çoğu bakteri ve arkeler 1000-6000 gen içeren genomları ile tek hücreli küçük organizmalardır. Bakteriler ve arkelerin genel özellikleri olarak sitoplazmada halkasal DNA, benzer hücre membran pompa ve kanalları, temel metabolik yollar, gen ekspresyonu, kamçılar ile hareketlilik ve organel içermemeleri sayılabilir (Şekil 2).

Arkeler fiziksel olarak bakterilere benzerken DNA replikasyonu,

Şekil 2. Prokaryot (bakteri) hücresi



transkripsiyon, protein sentezinin başlaması gibi moleküler mekanizmaları bakımından ökaryotlara benzerler. Arkeler V-tipi adenosin trifosfataz (ATPaz) ve izoprenil eter lipitlerden oluşan membran içerikleri ile F-tipi ATPaz ve fosfogliseridlerden oluşan membrana sahip bakterilerden ayırt edilirler. Arke ve bakteri hücrelerinin boyutları genellikle 1-5  $\mu$ , ökaryot hücrelerin ise 10-100  $\mu$  arasındadır. Kloroplastlarda oluşan **fotosentez** bitkiler ve siyanobakteriler gibi tek hücreli organizmalarda görülür. Güneşten gelen enerji fotosentez ile organik moleküllerin yapısındaki kimyasal bağ enerjisine dönüştürülür. Kloroplastlarda klorofiller tarafından absorblanan fotonlar  $H_2O$ 'yun  $O_2$ 'e oksidasyonu için kullanılır, ATP açığa çıkar,  $CO_2$  ve  $H_2O$ 'dan karbohidrat oluşur. Besinlerden veya güneşten gelen enerjiyi ATP'ye dönüştüren aerobik solunum, hemen hemen tüm ökaryotik hücrelerin sitozolünde başlar ve mitokondri de tamamlanır. Her glukoz molekülünün aerobik oksidasyonu ile 36-38 ATP molekülü oluşur. Ökaryotik hücreler iki temel mekanizma ile ATP elde ederler: **Aerobik solunum (oksidasyon)** sitozolde glikoliz ile glukozun pirüvata parçalanarak mitokondriye aktarılması ve pirüvat oksidasyonu ile  $CO_2$ ,  $H_2O$  ve sonuçta ATP açığa çıkmasıdır. Oksijen yokluğunda yani anaerobik koşullarda hücreler pirüvati laktik asite veya mayalarda etanol ve  $CO_2$ 'e metabolize ederler.<sup>1-8</sup>

#### Klinik Önemi

Polarize membran proteinlerinin hücre içi hatalı dağılımı kistik fibrozis, inklüzyon hücre hastalığı ve polikistik böbrek hastalığı gibi ciddi hastalıklara yol açabilir.

Hücre polaritesinin bozulması epitelyal tümörlerin ayırt edici özelliğidir. Mide displazisi ve adenokarsinomunda hücre polarite belirteci olan Lgl2 ekspresyonu yapılmaz.

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Declaration of Interests:** The author declares that she has no competing interest.

#### Kaynaklar

## Hücre

1. Alberts B, Heald R, Johnson A, et al. *Molecular Biology of the Cell*. 7th Ed. New York: W. W. Norton & Company, 2022.
2. Pollard TD, Earnshaw WC, Lippincott-Schwartz J, Johnson GT. *Cell Biology*. 3rd Ed. Philadelphia, Elsevier, 2017.
3. Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach*. 8th Ed. New York, Sinauer Associates, 2019.
4. Hardin J, Bertoni G. *Becker's World of the Cell*. 9th Ed. England, Pearson Education Limited, 2018.
5. Lodish H, Berk A, Kaiser C, et al. *Molecular Cell Biology*. 9th Ed. Macmillan Learning, 2021.
6. Clark DP, Pazdernik NJ, McGehee MR. *Molecular Biology*. 3rd Ed. London, United Kingdom, Academic Press Elsevier, 2019. **[Crossref]**
7. Wright BA, Kvensakul M, Schierwater B, Humbert PO. Cell Polarity Signalling at the Birth of Multicellularity: What Can We Learn from the First Animals. *Front Cell Dev Biol*. 2022 ;10:1024489. **[Crossref]**
8. Amos LA, Löwe J. Overview of the Diverse Roles of Bacterial and Archaeal Cytoskeletons. *Subcell Biochem*. 2017; 84:1-26. **[Crossref]**

# **BÖLÜM 3**

## **HÜCRE MEMBRANI VE NUKLEUS**

# Hücre Membranı ve Nukleus

## Cell membrane and Nucleus

### BÖLÜM HAKKINDA

Tüm hücre membranları sıvı-mozaik modeline göre hareket edebilen çift lipit tabakası içinde dağılmış proteinler ile ortak yapısal bir organizasyona sahiptir. Hücre membranında başlıca lipitler fosfolipitler, glikolipitler ve steroller iken membran proteinleri integral, periferel ve lipide bağlı proteinler olarak ayrılabilir. Organizmanın yapı taşı olan hücrenin fonksiyonlarının gerçekleşmesinde hücre membranı önemli rol oynar ve membranın yapısal bozuklukları çeşitli hastalıkların nedenidir. Serbest yüzey farklılaşmaları mikrovillus, silya ve stereosilyadır. Her ökaryotik hücrenin nukleusu; nukleus çift membranı, kromatin, nukleoplazma ve nukleolusdan oluşur. DNA replikasyonu, transkripsiyonu ve RNA'ların işlenmesi nukleusta gerçekleşir.

**Anahtar kelimeler:** Hücre membranı, mikrovillus, silya, stereosilya, nukleus

### ABOUT the CHAPTER

All cell membranes have a common structural organization with proteins dispersed in a lipid bilayer that can move according to a liquid-mosaic model. In the cell membrane, the main lipids are phospholipids, glycolipids and sterols, while membrane proteins can be divided into integral, peripheral and lipid-anchored proteins. The cell membrane plays an important role in the realization of the functions of the cell, which is the building block of the organism, and structural defects in the membrane are the cause of various diseases. Apical surface differentiations are microvilli, cilia and stereocilia. The nucleus of every eukaryotic cell consists of a double nuclear membrane, chromatin, nucleoplasm and nucleolus. DNA replication, transcription, and processing of RNAs take place in the nucleus.

**Keywords:** Cell membrane, microvillus, cilium, stereocilium, nucleus

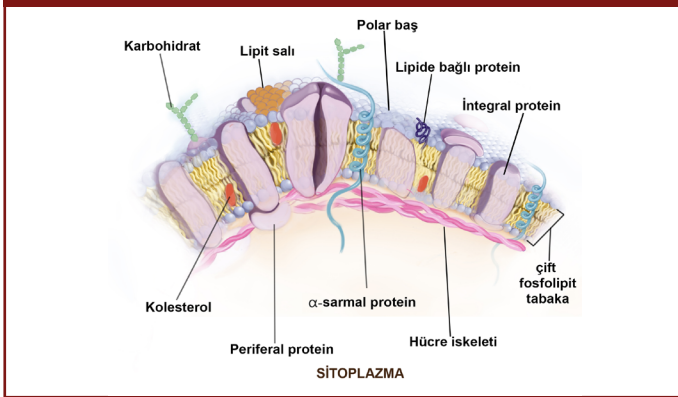


Hücre veya plazma membranlarının iki ana bileşeni proteinler ve lipitlerdir. Çoğu membran lipit ve proteinlerinin her iki tek tabakada asimetrik dağılımı, membranın her iki tarafının yapısal ve fonksiyonel olarak farklı olmasına neden olur. Singer ve Nicolson (1972) tarafından biyolojik membran yapısı için önerilen **sıvı-mozaik modeli** hareket edebilen çift lipit tabakası içinde mozaik şeklinde yer alan proteinleri tanımlamaktadır (Şekil 1). Çift lipit tabakasının hidrofobik kuyruk kısımları iki sulu ortamı birbirinden ayırarak geçirgenliği kısıtlar. Plazma membranı ~%40 lipit, %10 karbohidrat ve %50 protein içerir. Farklı hücre membranlarında protein, lipit ve karbohidrat çeşitleri ve oranları değişir. ATP sentezi ve elektron taşıma sistemi ile ilgili protein ve enzimleri içeren mitokondri iç membranı %78 protein ve %22 lipit içerirken, mitokondri dış membranı %55 protein ve %45 lipit içerir. İnsan eritrosit membranı %49 protein, %43 lipit ve %8 karbohidrat içerir.

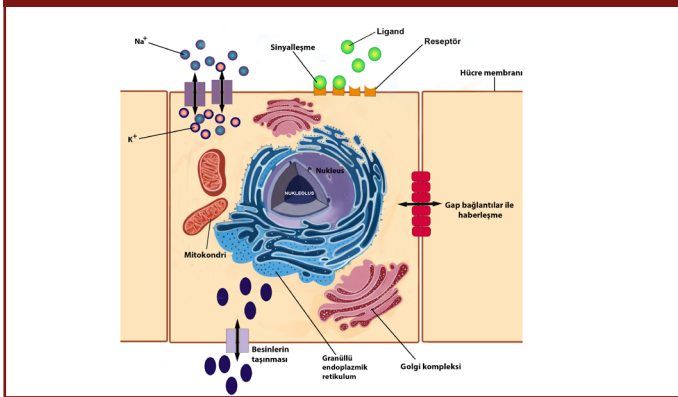
Membranlardaki karbohidratların büyük bir kısmını amino asit yan zincirlerine kovalent bağlı düz veya dallanmış karbohidrat zincirleri taşıyan glikoproteinler oluşturur. Glikoproteinlerde en fazla bulunan karbohidrat çeşitleri galaktoz, mannoz, sialik asit ve N-asetilglukozamindir. Prokaryotik hücre membranlarının farklı lipit bileşenleri vardır. Bakteri membranları fosfatidiletanolamin, fosfatidilgliserol, kardiyolipin ve diğer lipitleri içerir. Arkelerin membranları glikolipitler, nötral lipitler ve etere bağlı lipitleri içerirler. Hücre membran kalınlığı **6-8 nm** olduğundan ışık mikroskobu ile ayırt edilemez. Hücre membranı hücre sınırlarını belirleyerek diğer hücrelerle haberleşme, sinyalleşme, hidrofilik (polar) moleküllerin ve iyonların geçişini kısıtlama gibi çeşitli fonksiyonlara sahiptir (Şekil 2).



Şekil 1. Sıvı-mozaik membran modeli



Şekil 2. Hücre membran fonksiyonları



Çok küçük moleküller, gazlar, lipofilik moleküller hücre membranından *difüzyon* ile geçerken glukoz, amino asitler, katyonlar gibi hidrofilik moleküller membrandan **taşıyıcı proteinler** yardımı ile taşınır. Örneğin, membranda şeker taşınmasında GLUT (glukoz taşıyıcı) protein ailesi üyeleri iş görürler. Sinir hücreleri sodyum ve potasyum iyonlarını membrana özel **iyon kanal proteinleri** ile karşı hücreye elektrik sinyalleri şeklinde iletirler. Su seçici geçiren membran aracılığı ile az yoğun ortamdan çok yoğun ortama doğru *osmoz* ile geçer. Su kanal proteinleri olan **akuaporinler** membranların suya geçirgenliğini artırır. İdrar üretimi esnasında böbrek tübül epitel hücre membranlarında suyun hızlı absorpsiyonu için **su kanalı** oluşturan özel taşıyıcı protein **akuaporin-2** bulunur. Akuaporin-2 yokluğu yüksek miktarda seyreltik idrar atılımı ile belirgin olan **diabetes insipidus'a** yol açar.

Bir deterjan olan sodyum dodesil sülfat ile çözündürülen membran proteinleri iki boyutlu jel elektroforez yöntemi ile hem yüklerine hem de büyüklüklerine göre ayırt edilir. Western blot yöntemi ile uygun antikolar kullanarak her bir protein molekül ağırlığına göre tespit edilerek miktarı saptanır. Proteinlerin üç boyutlu yapılarının tayini ise X-ışını kristalografisi yöntemi ile gerçekleşir. Dondurup kırma yöntemi ile elektron mikroskopunda membran proteinlerinin yerleşimi gösterilir. Hücre membran proteinlerinden **integral** ( $\alpha$ -sarmal) membran proteinleri çift lipit tabakasını geçen transmembran proteinlerdir. **Periferel** membran proteinleri daha hidrofilik olduklarından fosfolipit çift lipit tabakasının her iki yüzeyine yerleşir. **Lipide bağlı proteinler** ise hidrofilik proteinler olarak membran yüzeylerinde veya lipit moleküllerine kovalent bağlanı-

rak çift tabaka içinde bulunurlar. Çift lipit tabakasını boydan boya geçen yani transmembran (integral) proteinlerin çoğu tek geçişli  $\alpha$ -sarmal proteinler iken bazıları çok geçişli olabilir.  $\alpha$ -sarmal yapısını oluşturan amino asitlerin hidrofobik yan zincirleri, çift fosfolipit moleküllerinin hidrofobik kuyrukları ile bağlantıdadır. Çoğu membran proteinini membran içinde lateral olarak hareket edebilir; ancak bazı proteinler hücre iskeleti gibi yapısal elemanlara tutunduklarından dolayı hareketleri kısıtlıdır. Daha büyük moleküller olan proteinler, lipitlerden çok daha yavaş hareket ederler. Bazı transmembran proteinler **reseptör** görevi görürken bazıları hücre iskelet proteinlerine bağlanarak **destek** görevi görürler. Ayrıca çeşitli maddelerin membrandan endositoz ile alınımı veya ekzositoz ile atılımı ve endoplazmik retikulum içinden proteinlerin Golgi kompleksine taşınma işlemlerinde membran proteinleri iş görür. Membranlar komşu hücre membranına veya ekstraselüler matrikse tutunup madde alışverişini sağlayan bağlantı komplekslerini ve çeşitli molekülleri içerir. Ökaryotik hücre organellerinin her biri kendilerine özgü membran proteinleri içerirler. Örneğin, glukoz-6-fosfataz endoplazmik retikulum membranında bulunan özel bir enzimdir.

Membran lipit molekülleri ~5 nm kalınlığında çift tabaka şeklinde düzenlenir ve çoğu suda çözünür moleküllerin geçişine engel olur. Üç ana sınıf membran lipidi vardır: 1-Fosfolipitler (fosfogliseritler ve sfingolipitler) 2-Glikolipitler (glikosfingolipitler, glikogliserolipitler ve glikozilfosfatidilinositoller (GPI'ler) 3-Sterol (kolesterol). Membranda en bol bulunan **fosfolipitler** bir fosfat grubu içeren polar baş kısmı ve genellikle yağ asitlerinden oluşan hidrofobik kuyruk kısımları içerir. Kuyruklardan birinde doymamış yağ asitlerinde bir veya daha çok sayıda bulunan çift bağlar kuyruksız hafif bir **kıvrılma** oluşturur. Daha çok doymamış yağ asiti içeren membranlar daha **akışkandır**. Çoğu organizma membran akışkanlığını lipit içeriklerini değiştirerek düzenleyebilir. Çünkü sıcaklık düştükçe lipit akışkanlığı azalır ve lipitler jel formuna geçerler. Örneğin, soğuk havalarda el ve ayak parmak uçlarının geçici olarak uyuşması duyuşal sinir sonlanmalarındaki membranların işlevini yitirmesi nedeniyledir. Farklı yağ asitleri ve baş kısımlarının birleşimleri çeşitli fosfogliseritlerin örneğin; fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin ve fosfatidilkolin oluşumuna neden olur. Hayvan hücre membranında en yaygın bulunan fosfolipit olan *fosfatidilkolin* yapısı bir fosfat grubuna bağlı kolinden oluşan hidrofilik baş ile her biri bir yağ asiti olan hidrofobik kuyrukları oluşturan iki hidrokarbon zincir yanı sıra baş kısmı gövdeye bağlayan bir gliserol molekülü ile beş kısımdan oluşur. Bir fosfolipitin adının "fosfatidil" kısmı, molekülün fosfat-gliserol-yağ asiti kısmıdır. Fosfolipitlerin diğer bir önemli sınıfı sfingolipitler gliserol yerine sfingozinden oluşur. En yaygın sfingolipit, sfingomiyelindir. Ayrıca çift lipit tabakası fosfolipitlere ilaveten membran lipitlerinin %2-10'unu oluşturan **glikolipitleri** içerir. Bazı glikosfingolipitlerin şeker baş grupları virüsler için reseptör görevi görür. İnsan eritrositlerinde A veya B antijenleri olarak bilinen hücre yüzey belirteçleri olan **glikosfingolipitler kan gruplarının** tayininde önemlidirler. Örneğin; hücreler A antijeni yani karbohidratın sonunda N-asetilgalaktozamin içeriyorsa kişinin kan grubu A'dır. B kan grubuna sahip bireylerde sadece galaktoz bulunur. Ökaryotik hücre membranlarının çift lipit tabakasında ~%20 **kolesterol** varlığı lipitlerin lateral hareketliliğine izin verir. Bir fosfolipit molekülünün membran içerisinde üç tür hareketi söz konusudur. **Rotasyon hareketi** kendi ekseninde dönmesi, **lateral difüzyon** tek tabaka içinde komşu moleküller ile yer değiştirmesidir. Çift fosfolipit tabakada bir lipit molekülü

saniyede ~10 milyon kez hareket ederek birkaç mikrometre lateral olarak yer değiştirebilir. Üçüncüsü nadir olarak fosfolipitlerin **takla (flip-flop) hareketi** yani lipidin bir lipit tabakasından diğer tabakaya hareketi fosfolipit translokatorleri olarak adlandırılan enzimler veya flippazlar ile gerçekleşir. **Flippazlar**, P-tipi ATPaz lipit pompaları olarak membran lipitlerini hücre dışına bakan lipit tabakasından sitoplazmaya bakan yüzeye hareketini sağlarlar. P4 ATPaz pompa tipi Golgi kompleks membranında bulunur. Floppazlar adı verilen **ABC taşıyıcı pompaları** lipit moleküllerini membranın sitoplazmaya bakan kısmından hücrenin dış ortamına doğru taşırlar. Fosfolipit asimetrisini sağlayan bir diğer taşıyıcı enzim **skramblaz** olarak adlandırılır. Normalde aktif olmayan bu enzim fosfotidilserinin membranın iç kısmından dış kısmına doğru yer değiştirmesini sağlayarak hücreyi apoptoza yönlendirir.

Hayvan hücre membranında **lipitler asimetrik** dağılır. Fosfolipitlerdeki yağ asitlerinin doymamışlık oranlarının farklı olması ve her iki tabakada yer alan lipit farklılıkları bu asimetriye neden olur. Örneğin, membranın sitoplazmaya bakan iç kısmında fosfatidilserin daha fazla yer alırken membranın dış yüzeyi kolesterol ve sfingolipitler açısından zengindir. Ayrıca dış yüzeyinde yaygın olmak üzere her iki yüzey tarafında da **lipit salları** (rafts) olarak tanımlanan özel lipitler ve iki yüzden fazla proteinin tanımlandığı geçici kümeler bulunur. Bu özel lipit yığınları besinlerin ve iyonların membrandan taşınması yani sıra dışı membranda reseptörler tarafından alınan sinyallerin hücre içine iletilmesinde de görev alırlar. Lipit sallarının hücre için doğru çöküp kaveolin aracılı endositoz oluşumunda da rol oynarlar.

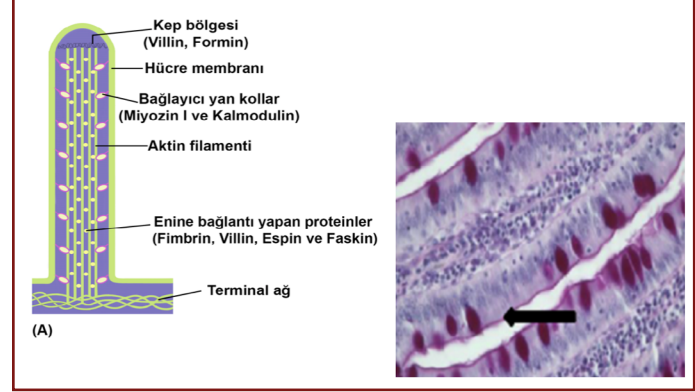
Birçok hayvan ve bakteri hücresi plazma membranına ait glikoprotein ve glikolipitlerin hücre yüzeyinden dışarı doğru uzanan karbohidrat zincirleri **glikokaliks** adı verilen bir tabaka oluşturur. Glikokaliks hücre yüzeyini mekanik strese ve çeşitli mikroorganizmalara karşı korur. Ayrıca hücre-hücre tanıma ve adezyonunda işlev görürler. Oysa bazen de glikokaliksin varlığı immün cevabı uyaran yüzey proteinlerini gizlediğinden *Streptococcus pneumonia* gibi patojen bakterilerin bağışıklık hücreleri tarafından tanınıp yok edilmesini önleyerek hastalığa sebep olur. **Tay-Sachs hastalığı** lizozomal enzim heksosaminidaz A'nın yokluğu ile sinir hücresi membranında **gangliozid** olarak adlandırılan bir glikolipitin yıkımındaki bozukluk sonucu beyin ve sinir dokusunda gangliozid birikimi ile ortaya çıkar. Yaklaşık 6 aylık çocuklarda görülen mental ve motor bozukluklar, iskelet, kardiyak ve solunum yetmezlikleri ölüm ile sonuçlanır.<sup>1-4</sup>

## Serbest Yüzey Farklılaşmaları

Hücre membranı tek tip yapıda olmayıp hücrenin farklı yüzeylerinde işlevine göre farklı yapısal özellikler içerir. Serbest (apikal) yüzey farklılaşmaları mikrovillus, silya ve stereosilya olmak üzere üçe ayrılır. **1-Mikrovillus** hücrenin apikal yüzeyinde plazma membranı ve sitoplazmanın oluşturduğu lümene uzanan parmaklı farklılaşmalardır. Hücre apikalinde çok sayıda yer alırlar ve yaklaşık 1 µm uzunluğundadır. Mikrovilluslar (mikrovilli) hücrenin **emilim** yüzeyini yaklaşık 20 kat artırabilirler. Bir hücredeki sayıları 100-3000 adet arasında değişkenlik gösterebilir. İnce yapı ancak elektron mikroskop ile ortaya çıkarılmıştır. Bir mikrovillus yapısında 20-30 *aktin* mikrofilamenti bulunur. Aktin mikrofilamentlerinin (+) uçları formin ve villin içeren apikal kep bölgesinde sonlanır. Aktin mikrofilamentlerini bir arada tutan, düzenli olarak enine yer-

leşmiş bağlantı proteinleri ise *faskin*, *espin*, *fimbrin* ve *villindir*. Aktin filamentleri ile lateral plazma membranları arasında *miyozin I* ve kalsiyum bağlayıcı *kalmomodulin* proteinlerinden oluşan yan bağlantılar bulunur. Miyozin I'in motor aktivitesi hücre membranını mikrovillusun ucuna doğru hareket ettirir (Şekil 3).

**Şekil 3.** Bir mikrovillusun ince yapısının şematik çizimi (A). İnce bağırsak kesiti, ok çizgili kenarı göstermektedir. X40, Boya: Periyodik Asit Schiff + Hemalaun.



Apikal yüzde hücre membranının dışında kalın bir glikokaliks tabakası görülür. Bu tabakada polisakkaritler ve sindirim enzimleri (peptidaz, glikosidaz) yer alır. **İnce bağırsak** ve **böbrek** proksimal tübülünü döşeyen epitel hücrelerinde mikrovilli ve glikokaliks tabakasının bir araya gelmesi ile oluşan yapıya **çizgili kenar** adı verilir, ışık mikroskopik olarak hücre apikalinde PAS (+) olarak izlenir. Mikrovilluslar ince bağırsakta besinlerin, böbrekte ise su ve iyonların emiliminde işlev görürler. Mikrovillus yapısındaki aktin mikrofilamentleri yaklaşık 0.5 µm içeri girerek hücrenin apikalinde uzanan *terminal ağ* ile birleşirler.

Terminal ağ yapısındaki ara filamentler arasında yer alan başlıca proteinler tropomiyozin, miyozin II ve spektrinden oluşmaktadır. Mikrovillus hareketinde miyozin II motor protein olarak işlev görür. Aktin filamentlerinin terminal ağa bağlanmasını sağlayan spektrin ise mikrovillusa mekanik destek sağlar.

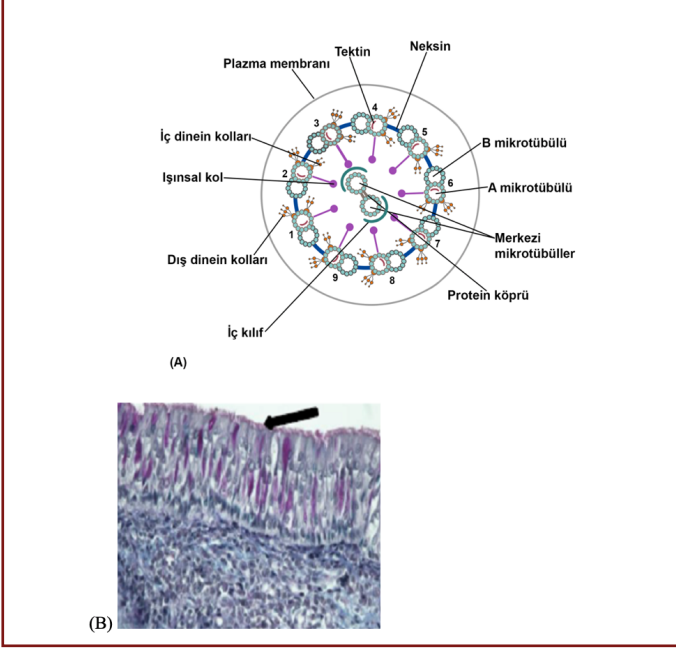
**2-Silya** yaklaşık 10 µm uzunluğunda, hareketli yüzey farklılaşmasıdır ve ışık mikroskopunda ayırt edilebilir. Tek hücreli paramesyumlar silyaların vuruş hareketleriyle sıvı içerisinde vurma yönü doğrultusunda hareket ederler. Bir epitel hücresi apikal yüzeyinde 250-300 silya içerebilir. Solunum yollarındaki epitel hücrelerinin silyaları mukus ve tozların nazofarinkse doğru taşınmasını, tuba uterina epitel hücrelerinin silyaları hareketsiz olan yumurta hücresinin uterusu taşınmasını, duktus efferenteslerde ise henüz hareket yeteneği kazanmamış spermilerin duktus epididimise taşınmasını sağlar.

Silya elektron mikroskop ile incelendiğinde, kompleks bir iç yapıya sahiptir. Bütün ökaryotlarda silya yapısı **aksonem** olarak adlandırılan hücre membranı ile çevrili mikrotübüllerden oluşur. Periferde dairesel yerleşmiş 9 çift mikrotübül ve merkezde 2 tek mikrotübül bulunur. Bir silyanın *enine kesiti 9+2* yapısındadır. Silya ve kamçı aksonem enine kesiti incelendiğinde; 13 protofilament içeren A mikrotübülü ve A ile ortak duvarı paylaşan 10 protofilament içeren B mikrotübülünden oluşan 9 adet çift mikrotübül içerir.

Aksonemin merkezi mikrotübüllerini oluşturan C1 ve C2'nin her

biri 13 protofilamentten oluşur ve bir çift protein köprü ile bağlantılıdır. Mikrotübül yapısını oluşturan protofilamentlerin alt birimi tübülün monomerleridir.  $\alpha$  ve  $\beta$  tübülün alt birimleri dimerler şeklinde organize olarak protofilamentleri oluştururlar. A tübülünün B tübülüne bağlandığı dış duvarda yerleşen *tektin* filamentleri hem mikrotübül çiftinin bağlanmasında hem de dayanıklılığın sağlanmasında rol oynar (Şekil 4).

**Şekil 4.** Silya ve kamçı aksonem yapısı (A). Trake kesiti, ok silyalara işaret etmekte, X40. Boya: Periyodik Asit Schiff +Hemalaun+Işık yeşili (B).



Dinein ATPaz aktivitesine sahip ağır, orta ve hafif zincirlerden oluşan büyük ve kompleks bir moleküldür ve mikrotübül çiftleri arasında geçici köprüler oluşturur. Bir A mikrotübülünün iç dinein kolu bir veya iki ağır zincir içerirken dış dinein kolu iki veya üç ağır zincire sahiptir. İç dinein kolların vuruş için gerekli olduğu iç koldan biri olmadığında bile hareketin değişmesiyle gösterilmiştir. Dış dinein kolların harekette çok etkin olmasa da iç dinein kollara destek olduğu ve vuruş sıklığını etkilediği bilinmektedir. Dış koldaki dineinin hem kalsiyum hem de siklik adenozin monofosfat (cAMP) bağımlı fosforilasyonu silya vuruş sıklığını değiştirebilir. Merkezde yer alan C1 ve C2 mikrotübülleri iç kılıf olarak bilinen fibröz bir yapı ile çevrelenir. Periferde yerleşmiş A mikrotübülünden merkezi mikrotübüllere uzanan, polipeptit yapılı ışınsal kolların dineinin aktivitesini düzenlediği düşünülmektedir. Merkezde yer alan mikrotübüller sitoplazmaya bağlantı yerinde kesilirken 9 çift mikrotübül bazal cisimde 9 adet üçlü mikrotübül olarak devam eder. Silya sentriyolden kökenlenen bazal cisimden gelişir. Bazal cisim 9 adet üçlü mikrotübül yapısı ile sentriyole benzer ve aksonemin büyümesinde görev alır. Bazal cisim (9x3) üçlü mikrotübüllerinden tam olan A mikrotübülü, tam olmayan B ve C mikrotübülleri ile birleşir. Bazal cisim yapısı sentriyole ilaveten kökçük ve bazal ayak gibi aksesuar yapıları içerir.

**Hareketli silya (9+2)** genellikle epitel hücrelerinde salgıların, yabancı cisimlerin taşınmasında veya sperm hücrelerinde flagellum yapısında sperm hareketini sağlar. Hareketli silya dinein ve ışınsal kollar içerir. Oysa çoğu memeli hücresinde bulunan dinein

kollar içermeyen **tek hareketsiz silya (9+0)**, hücre dışı sinyalleri hücre içine ileten algılayıcılar olarak kabul edilmektedir. Ekseni etrafında **dönen silya (9+0+dinein kollar)** gelişim esnasında asimmetrik organ yerleşiminde rol oynar.

*Silya etkin ileri vuruş ve pasif geri vuruş yaparak* yapının tabanından başlayıp uca doğru yayılan bir seri vuruşla hareketi gerçekleştirir. Bu hareket birbirini izleyen dalga şeklinde ilerler. Silya bükülme hareketi için **kayan mikrotübül mekanizması** kabul görmektedir. Bu mekanizmaya göre silyanın hareketi çevresel mikrotübül çiftlerinin birbirlerine oranla farklı kaymaları sonucu meydana gelmektedir. Mikrotübül çiftleri arasında bulunan neksin köprüleri nedeniyle bir çiftin diğerine göre farklı kayması bükülme ile sonuçlanır. ATP hidrolizi ile mikrotübül çiftindeki A tübülünün dinein baş kısımları komşu mikrotübül çiftindeki B tübülünün aşağısına (-) uç yönüne doğru kayar. Dinein kayma kuvvetinde rol oynayan mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır. Silya 9 çift mikrotübül arasında bulunan neksin köprüleri ve membran sayesinde pasif olarak geri çekilir. Plazma membranındaki transmembran proteinler mikrotübül boyunca ileri ve geri harekete motor proteinler aracılığı ile katkıda bulunabilirler. İleriye doğru hızlı hareket sırasında hücrenin çevresindeki sıvı silyanın hareketi yönünde itilir. Geriye doğru yavaş hareket ise sıvıyı hareket ettirmez. Sonuçta sıvı sürekli olarak vuruş yönünde hareket eder.

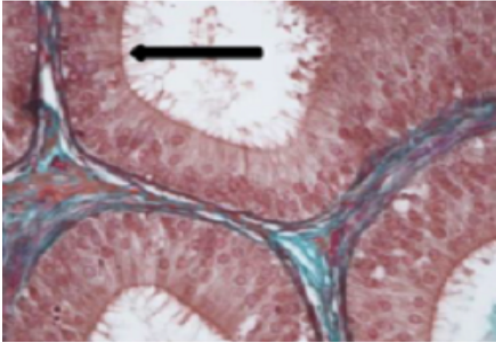
**Kamçı (flagellum)**, ~200  $\mu\text{m}$  uzunlukları ve **kıvrımlı dalga** hareketleriyle silyalardan farklıdır. Çoğu protozoa ve sperm kamçısı silya iç yapısına benzerdir. Fakat memeli sperm kuyruğu genellikle 9+2 yapısından farklıdır. 9+2 mikrotübülün etrafında dokuz adet yoğun fibril seti bulunur, formülü **9+9+2**. Kamçıda çift mikrotübüllerin kayması enine yerleşmiş bükülebilir bağlayıcı proteinler olan **neksin** ile önlendiğinden kıvrımlı dalga şeklinde hareket oluşur. Bir hücrede bir veya iki kamçı bulunabilir. Bakterilerde flagellin proteininden oluşan bir tüp şeklinde olup ökaryotik hücre kamçısından oldukça farklıdır.

Dinein proteininin eksik olduğu **Kartegener sendromlu** bireylerde, situs inversus olarak adlandırılan iç organların yerlerinde değişiklik izlenebilir, yani kalp ve karaciğer zıt yerleşim gösterir. Ayrıca bu bireylerde sperm kuyruğunun hareketsizliği erkek kısırlığına, solunum epitelinin silya hareketsizliği akciğer enfeksiyonlarına yol açar. **Young sendromunda** obstrüktif azospermiye kronik sinobronşial hastalık eşlik eder. Young sendromunda epididim orta segment lümeninin amorf bir materyal ile tıkanması sonucu azospermi görülür. Sperm kuyruğunun elektron mikroskop incelemesinde merkezi mikrotübül çiftleri, ışınsal uzantılar veya iç dinein kolları bulunmaz. Bu da sperm kuyruğunun aktivitesinin bozukluğuna neden olur. Çeşitli hastalıklar örneğin; kistik böbrek, obezite, zekâ geriliği, körlük, çeşitli gelişim bozuklukları **siliopatiler** yani silya bozuklukları ile ilişkilidir. Silya içi taşımada mikrotübüle bağlı hatalı taşıma sonucu bazal cisim, silya veya flagellum içi taşıma ile flagellum yapı ve fonksiyonunda görülen bozukluk **Bardet-Biedl Sendromu** ile sonuçlanır.

**3- Stereosilya** -8  $\mu\text{m}$  uzunluk ile silya boyutuna benzer, hareketsiz ve bazal cisim içermez. Stereosilya oluşum amacı **emilim** yüzeyini arttırmaktır ve mikrovilluslara benzer olarak aktin filamentleri yapıya destek sağlar. Mikrovilluslara göre daha uzun ve dallanmış yapıdadırlar, apikalinde endositotik veziküller içerirler. Stereosilyaların serbest uçları birbirine yapışmaya meyilli olup, demetler oluşturabilir. Elektron mikroskop incelemesinde komplike bir iç

yapı göstermedikleri gözlenmiştir. *Villin*, *faskin*, *fimbrin*, *espin* ile aktin filamentleri birbirine bağlanır. İçlerinde muntazam olmayan aktin filament ağı bulunur. Duktus epididimis hücrelerinin yüzeyinde bulunan stereosilya testisten gelen sıvının %90'ının emilimini sağlar. Böylece spermatogenez süresince oluşan artık cisimciklerin ortadan kaldırılması ve sindirilmesinde iş görür (Şekil 5). Stereosilyalar iç kulakta *işitme reseptör hücrelerinde (hair cell)* bulunurlar ve demetler oluştururlar. Ses titreşimlerine yanıt olarak gelişen elektriksel sinyal stereosilyaların bükülmesine neden olur. Aşırı yüksek ses, toksinler veya hastalıklarla reseptör hücre kaybı olursa, bu hücreler sadece embriyonik dönemde geliştiğinden geri dönüşümsüz sağırlık gelişir.<sup>1,5-10</sup>

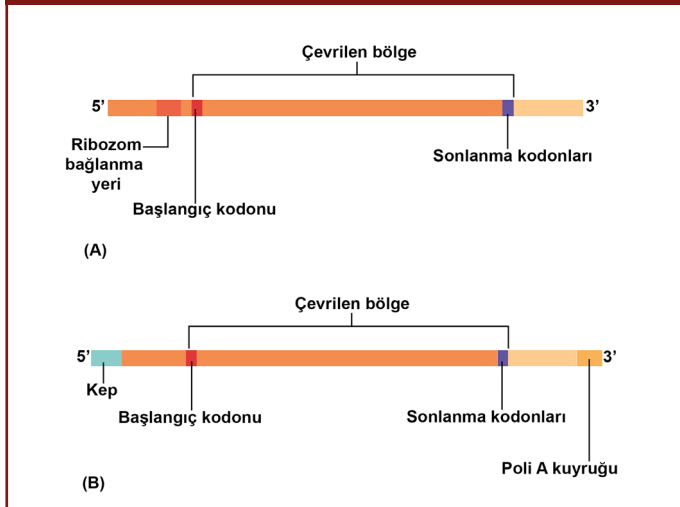
**Şekil 5.** Duktus epididimis kesiti, ok stereosilyalara işaret etmekte, X40. Boya: Masson.



## Nukleus

Ökaryotik hücrelerde bulunan nukleus (çekirdek) genetik bilginin depolandığı ve ekspresyonunun yapıldığı yerdir. **DNA replikasyonu, transkripsiyonu ve RNA'ların işlenmesi** nukleus içinde gerçekleşir. Memeli eritrositleri ve trombositler gibi farklılaşmış hücreler nukleus içermezler. Prokaryotik mRNA'ların sitozolde transkripsiyonları sürerken translasyon işlemleri de gerçekleşir. Oysa ökaryotik mRNA'lar nukleusda alternatif kesilme gibi çeşitli transkripsiyon sonrası işlemleri bitince sitoplazmaya geçerler (Şekil 6).

**Şekil 6.** Prokaryotik (A) ve ökaryotik (B) mRNA



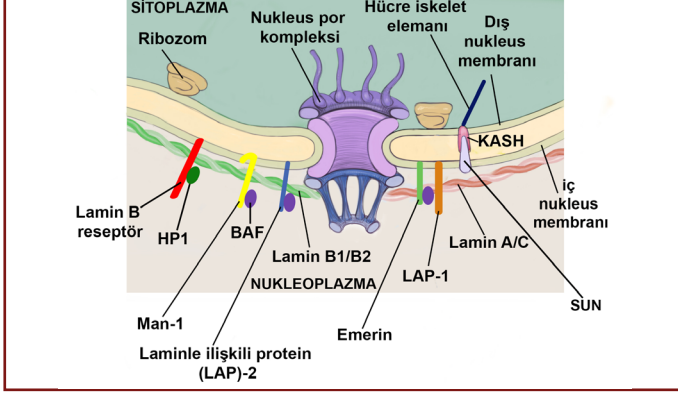
Nukleusun nukleolus (çekirdekçik) dışında kalan kısmı **nukleoplazma** (nukleus matriksi) olarak adlandırılır. Nukleus şekli genelde hücre şekli ile uyumludur. Kübik hücrelerde nukleus yuvarlak iken prizmatik hücrelerde oval şekillidir. Genetik materyal DNA'yı saran nukleus membranı ile ökaryotik hücre iki ana bölüme yani nukleus ve sitoplazmaya ayrılır. İnsan genomunda DNA çift sarmal yapısı yüz milyonlarca nükleotit uzunluğundadır. 46 adet kromozomda bulunan doğrusal DNA molekülünün toplam uzunluğu ~2 m'dir. Nukleusda bulunan DNA, histon ve histon olmayan protein kompleks ile birlikte interfaz evresinde **kromatin** ve hücre bölünme aşamalarında **kromozom** yapısının önemli bir kısmını oluşturur. İnterfaz kromatininin ~%10'u transkripsiyon için aktif olmayan, bazik boyalar ile koyu boyanan, yoğunlaşmış kromatin bölgeleri **heterokromatin** olarak adlandırılır. Heterokromatin çoğunlukla çok sayıda tekrarlayan DNA dizilerinden oluşur. Nukleusun periferine yerleşen heterokromatin hem iç nukleus membran proteinleri hemde nuklear lamina ile bağlantılıdır. **Ökromatin** daha çok protein kodlayan dizilere sahiptir. Bu diziler transkripsiyon için aktif, açık olan DNA kısımları içerdiğinden nukleus boyaları ile daha soluk boyanır. **Konstitütif heterokromatin** yoğunlaşmış genelde transkripsiyonu yapılmayan veya çok az yapılan tekrar dizilerinden oluşur. Histon proteinlerinin asetilasyonu azalmıştır. DNA'nın belirli bölgelerindeki sitozin bazları ve histon proteinlerinin metilasyonu artmıştır. Sentromer ve telomerler konstitütif heterokromatin tipindedir. **Fakültatif heterokromatin** histon metilasyonu veya siRNA susturulması ile oluşan heterokromatin veya ökromatinin birbirine dönüştüğü heterokromatindir. Örneğin; memeli dişilerdeki iki X kromozomunun aktif olmayan X kromozomu heterokromatin yapıda iken aktif X kromozomu ökromatin yapıdadır.

Ökaryotik hücreler çift membran ile çevrili bir nukleusa sahiptirler. Nukleus çift membranında yer alan por kompleksleri aracılığı ile nukleus ve sitoplazma arasında iyonlar, küçük polar moleküller, protein ve RNA'ların iki taraflı geçişi mümkün olur. Örneğin; nukleus porları aracılığı ile sitoplazmada sentezlenen histonlar, DNA ve RNA polimerazlar gibi moleküller nukleusa geçerken, tRNA ve mRNA'lar nukleusda sentezlenip sitoplazmaya geçerler. **Nukleus por kompleksi (NPK)** sitoplazma ve nukleusa bakan yüzeylerde yer alan halkalara bağlı 8 adet tekerleğe benzer (spoke) yapıdan oluşan merkezi bir kanal şeklindedir. Merkezi kanal taşımayı düzenleyen proteinler içerir. Dış çapı ~120 nm olan NPK, nukleoporinler olarak adlandırılan ~30 farklı proteinden oluşur. Sitoplazmik halkadan çıkan sitoplazmik filamentlerin yanı sıra nuklear halkadan çıkıp sepet şeklinde bir yapıdan uzanan filamentler de vardır. Memeli hücre nukleusu ~3000- 4000 NPK içerir. Bir memeli hücresinde dakikada 20.000 ribozom alt ünitesi sentezlendiği düşünülürse her NPK'den dakikada 5 veya 6 alt ünitenin sitoplazmaya taşınması söz konusudur. Por komplekslerinden histonlar gibi küçük moleküller pasif difüzyon ile ribonükleoproteinler gibi makromoleküller ise aktif taşıma ile geçerler. **Nukleus dış membranı** endoplazmik retikulum (ER) ile bağlantılı olarak ER membranından biraz daha fazla membran proteini içerir. Nukleus iç ve dış membranları arasındaki **perinuklear aralık** yani lümen ER ile devamlılık gösterir. Nukleus dış membranın sitoplazmaya bakan tarafına ribozomlar bağlanır. Nukleus dış membran proteinleri hücre iskeleti elemanları ile bağlanarak hücre içinde nukleusun yerini belirler. **Nukleus iç membranının** altında nukleus şeklinin oluşmasına destek veren ara filamentlerden oluşan 10-20 nm kalınlığında **nuklear lamina** yer alır. Nuklear lamina yapısındaki



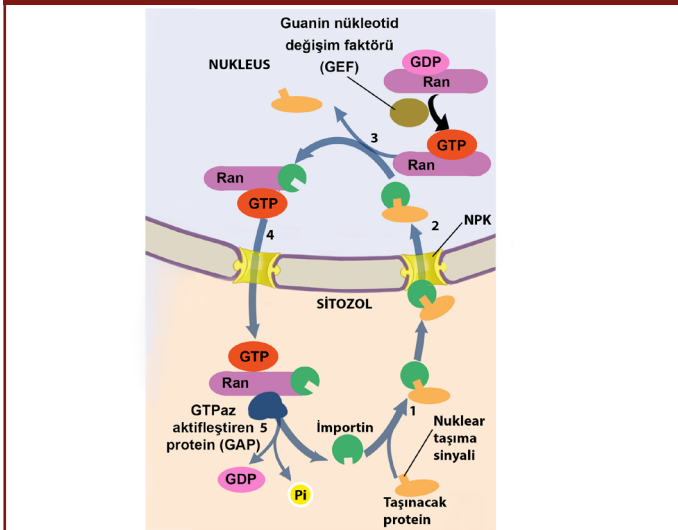
laminler (lamin A, B, C), lamin B1/B2 ve lamin A/C ile ilişkili proteinler aynı zamanda kromatinin bağlanma yeridir (Şekil 7). **Emery-Dreifuss kas distrofisi** nüklear lamina yapısında yer alan **lamin A/C** geninde meydana gelen mutasyon ile oluşur.

**Şekil 7.** Nükleus dış ve iç membranları ile ilişkili proteinler ve nükleus por kompleksi



Çeşitli ölçüm çalışmaları ile NPK kanal çapının ~9 nm olduğu ve ağırlığı ~30.000 dalton üzeri olan moleküllerin geçişinin kısıtlandığı gösterilmiştir. Nükleusa taşınacak proteinler 8-30 amino asitlik **nüklear taşıma sinyalleri (NTS)**'ni tanıyan **importin** olarak adlandırılan nüklear taşıma reseptörleri ile NPK kanalından geçerler. Importinler guanozin trifosfat (GTP)-bağlayıcı protein olan **Ran** ile sitoplazma ve nükleus arasındaki taşıma yönünü belirlerler. Nükleusdan sitoplazmaya geçen çoğu RNA molekülünün aksine mRNA'lar Ran'dan bağımsız olarak taşınır. Nükleusdan sitoplazmaya taşınacak proteinler nüklear eksport sinyallerini tanıyan **ekspor-tin** olarak adlandırılan nükleus içindeki reseptörler aracılığı ile NPK'den sitoplazmaya geçerler. tRNA ve miRNA'ların taşınmasında özel eksportinler iş görür. Nükleus membranından geçen Ran-GTP konsantrasyon gradiyenti importin veya eksportinler ile yükün taşınmasında önemli rol oynar. Nüklear taşıma reseptör ailesine ait importinler ve eksportinler **karyoferinler** olarak adlandırılır (Şekil 8).

**Şekil 8.** Nükleus por kompleksi (NPK) ve importin ile nükleus içine taşıma



**Nüklear cisimler** bir membranla çevrili olmayan nükleus içinde proteinlerin ve RNA'ların yoğunlaştığı dinamik yapılardır. En bilinen nüklear cisim nükleolusdur. **Nükleolus** ökaryotik hücrelerde genellikle bir veya iki tanedir. Nükleus içinde membran içermeyen bu yapı fibriller ve granüller şeklinde görülür. Nükleus DNA'sı ile ilişkili olan fibriller yapı rRNA'ların transkripsiyonunda iş görür. Granül şeklinde görülen yapılar ise sitozole taşınacak olan ribozom alt ünitelerini içerir. Bu nedenle protein sentezi bakımından aktif olan hücreler daha büyük çapta nükleolusa sahiptirler.<sup>1,2,11-15</sup>

#### Klinik Önemi

Akuaporin-2 yokluğu yüksek miktarda idrar atılımı ile belirgin olan diabetes insipidus'a yol açar.

Mikrovillus inklüzyon hastalığı mikrovillus eksikliği ile karakterize nadir otozomal resesif bir hastalıktır.

Silya dineini eksik olan Kartegener sendromlu bireylerde hareketsiz sperm kısırılığa ve akciğer enfeksiyonlarına neden olur.

Lamin A veya lamin bağlayıcı proteinlerin ekspresyonunu etkileyen mutasyonlar laminopatiler olarak bilinen hastalıkların nedenidir.

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Declaration of Interests:** The author declares that she has no competing interest.

#### Kaynaklar

- Alberts B, Heald R, Johnson A, et al. *Molecular Biology of the Cell*. 7th Ed. New York: W. W. Norton & Company, 2022.
- Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach*. 8th Ed. New York, Sinauer Associates, 2019.
- Epanand RM. Introduction to Membrane Lipids. *Methods Mol Biol*. 2015;1232: 1-6. [\[Crossref\]](#)
- Nicolson GL. Update of the 1972 Singer-Nicolson Fluid-Mosaic Model of Membrane Structure. *Discoveries (Craiova)*. 2013;1(1): e3. [\[Crossref\]](#)
- Pollard TD, Earnshaw WC, Lippincott-Schwartz J, Johnson GT. *Cell Biology*. 3rd Ed. Philadelphia, Elsevier, 2017.
- Hardin J, Bertoni G. *Becker's World of the Cell*. 9th Ed. England, Pearson Education Limited, 2018.
- Breslow DK, Holland AJ. Mechanism and Regulation of Centriole and Cilium Biogenesis. *Annu Rev Biochem*. 2019;88: 691-724. [\[Crossref\]](#)
- Schneeberger K, Roth S, Nieuwenhuis EES, Middendorp S. Intestinal Epithelial Cell Polarity Defects in Disease: Lessons from Microvillus Inclusion Disease. *Dis Model Mech*. 2018;11(2): [\[Crossref\]](#)
- Kierszenbaum AL, Tres LL. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*. 5th Ed. USA, Elsevier, 2020.
- Ross MH, Pawlina W. *Histology. A Text and Atlas With Correlated Cell and Molecular Biology*. 6th Ed. USA, Lippincott Williams & Wilkins, 2011.
- Lodish H, Berk A, Kaiser C, et al. *Molecular Cell Biology*. 9th Ed. Macmillan Learning, 2021.
- von Appen A, Beck M. Structure Determination of the Nuclear Pore Complex with Three-Dimensional Cryoelectronmicroscopy. *J Mol*

## Hücre

- Biol.* 2016;428(10 Pt A): 2001-10. [\[Crossref\]](#)
13. Krebs JE, Goldstein ES, Kilpatrick ST. *Lewin's Genes XI*. 10th Ed, Jones & Bartlett Learning, 2014.
  14. Su JH, Zheng P, Kinrot SS, Bintu, B, Zhuan X. Genome-Scale Imaging of the 3D Organization and Transcriptional Activity of Chromatin. *Cell*. 2020;182(6): 1641-59. [\[Crossref\]](#)
  15. Edens LJ, White KH, Jevtic P, Li X, Levy DL. Nuclear Size Regulation: from Single Cells to Development and Disease. *Trends Cell Biol.* 2013;23(4): 151-59. [\[Crossref\]](#)

# **BÖLÜM 4**

## **DNA REPLİKASYONU VE TAMİR MEKANİZMALARI**

# DNA Replikasyonu ve Tamir Mekanizmaları

## DNA Replication and Repair Mechanisms

### BÖLÜM HAKKINDA

Kseno nükleik asitler sentetik polimerlerdir. Çoğu ökaryot ve bakteri DNA replikasyonu çift yönlü olarak gerçekleşir. Ökaryot ve prokaryot hücrelerde yarı koruyucu DNA replikasyonu 5' ucundan 3' ucuna doğru olmaktadır. DNA polimeraz tarafından RNA primerlerinin uzatılması ile küçük Okazaki parçaları sentezlenir. DNA polimeraz ile hasar görmemiş DNA dizisi kalıp olarak kullanılarak sentez yapılır ve DNA uçları ligaz ile birleştirilir. Ultraviyole ışınları pirimidin dimer oluşumuna, gama ve x-ışınları DNA baz değişimine neden olabilir. Tamir genlerindeki mutasyonlar kromozom kırıkları ile kanser riskini artırır.

**Anahtar kelimeler:** DNA, DNA replikasyonu, DNA tamir mekanizmaları

### ABOUT the CHAPTER

Xeno nucleic acids are synthetic polymers. Most eukaryotic and bacterial DNA replication occurs bidirectionally. Semi-conservative DNA replication in eukaryotic and prokaryotic cells occurs in the 5' to 3' direction. Small Okazaki fragments are synthesized by the extension of RNA primers by DNA polymerase. Using the undamaged DNA sequence as a template, synthesis is made by DNA polymerase and the DNA ends are joined with ligase. Ultraviolet rays can cause pyrimidine dimer formation and gamma and x-rays can cause DNA base alterations. Mutations in repair genes increase cancer risk through chromosomal breaks.

**Keywords:** DNA, DNA replication, DNA repair mechanisms

## DNA

DNA nükleotit adı verilen birimlerin tekrarlanması ile oluşan iki uzun polimer içerir. Her bir **nükleotit** bir pentoz, azotlu bir baz ve fosfat grubundan oluşur. DNA'daki şeker **deoksiriboz** yani ikinci karbonunda bir oksijen eksiktir. Bazlar pürin veya pirimidindir. **Pürinler** adenin (A) ve guanin (G), **pirimidinler** sitozin (C) ve timin (T) dir. **RNA** molekülünde T yerine **urasil (U)** bazı bulunur. Pürin iki heterosiklik halka, pirimidin ise tek heterosiklik halka içerir. Bazların şekerle birleşmesi ile **nükleositler** (timin + şeker → timidin), nükleositlerin fosfat gruplarına bağlanması ile **nükleotitler** oluşur (Şekil 1)<sup>1</sup>

DNA yapısında nükleotit zincirleri, bir şekerin hidroksil grubu diğerinin fosfat grubuna bağlanarak oluşur. Fosfat grubu şekerlerle birleşerek 3'-5' **fosfodiester bağlantıları** yapar. Zincirin bir ucunda serbest 5' trifosfat grubu, diğer ucunda serbest 3' hidroksil grubu yer alır. DNA bağlantıları bir zincirde 3'-5' yönde iken diğer zincirde 5'-3' tersi yöndedir. Bazlar şekerlerin birinci karbonuna bağlanırlar ve zikzak biçimde molekül uzar. O, H, N, C atomları arasındaki elektronegatif farklılıklardan dolayı pürin ve pirimidinler polar kısımlara sahiptirler. Bu kısımların polaritelerine göre A ile T, G ile C arasında polar moleküllerin birbirine zıt elektrik yükleri arasında elektrostatik çekim sonucu **hidrojen bağları** oluşur. Farklı organizmalarda pürin (A+G) ve pirimidin (C+T) oranları **Chargaff kuralı** olarak bire eşittir.

İki iplikten oluşan DNA çift sarmalı dönen bir merdiven gibidir. Sola dönen sarmal Z formu, sağa dönen sarmal A ve B formlarını oluşturur. Watson-Crick modeli olarak bilinen biyolojik **B-DNA** sarmal yapısının her dönümünde 10 nükleotit bulunur. Komşu baz çiftleri basamakları arasında uzaklık 0.34 nm olup biri diğerine 36 A° lik açı yapar. Bu nedende 1. bazla 11. baz aynı yönde olur. DNA sarmalının çapı 2.37 nm olduğundan ancak bir pürin ile bir pirimidin bazı bu aralığa sığabilir. B-DNA biri büyük diğeri küçük iki oluk



İçerir. Düzenleyici proteinler genellikle büyük oluğa bağlanırlar. **A-DNA** formunda bazlar sarmal eksene daha dikey konumdadır. A formunda sarmal 11 baz çifti içerir, komşu baz çiftleri basamakları arasında uzaklık 0.29 nm'dir. DNA-RNA veya RNA-RNA eşleşmesinde çift sarmal yapısı A formundadır. A-DNA, B-DNA'nın aksine daha dar büyük oluk ve daha geniş küçük oluğa sahiptir. Bu oluklar DNA-protein etkileşiminde önemlidir.

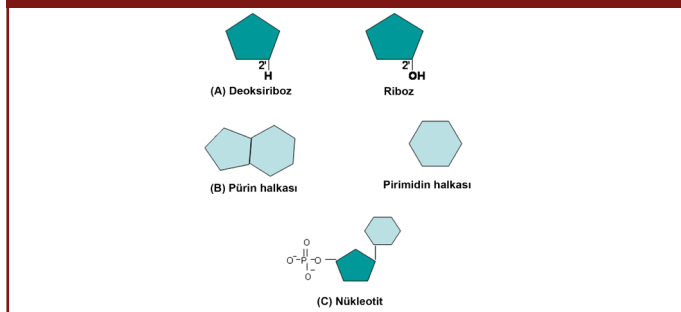
**Z-DNA** formunda şeker fosfat omurgasının zikzaklı yapısı sola her dönüşünde 12 baz çifti içerir ve diğer formlara göre çapı daha dardır. Z-DNA bazı genlerin ekspresyonunda kısa oluşumlar olarak görülür. DNA'nın iki ipliğinin geçici kısa bölgeler halinde RNA sentezi ve replikasyon sırasında ayrılması nükleotitler arasındaki fosfodiester (kovalent) bağlar bozulmadan gerçekleşir.

**Xeno nükleik asitler (XNA'lar)**, şekerleri veya fosfodiester omurgası veya bazları farklı olan yarı sentetik polimerler olarak yeni bir nükleik asit sınıfıdır. XNA'lar XNA-XNA, XNA-DNA, XNA-RNA şeklinde çift sarmal yapı oluşturabilirler. Heksitol, threoz, arabinoz gibi şekerlerin deoksiriboz yerine geçtiği sentetik DNA molekülleri tanımlanmıştır. İnsan DNA'sındaki GATC bazlara ilaveten sentetik dört baz ilavesi ile çift sarmal yapısı oluşturulmuştur. Araştırmacılar, dört baza ilave X ve Y olarak bilinen iki yeni baz kullanarak CRISPR-cas 9 teknolojisi ile E. coli bakteri genomunda değişiklik yaparak bakteriyi çoğaltmışlar ve 60 bölünme sonrası bile hayatta kalmasını sağlamışlardır. Ayrıca XNA nükleotit zincirlerinin hiçbir enzim kullanmadan çoğaltılması RNA öncesi yaşamı XNA'ların oluşturmuş olabileceğini düşündürmektedir.

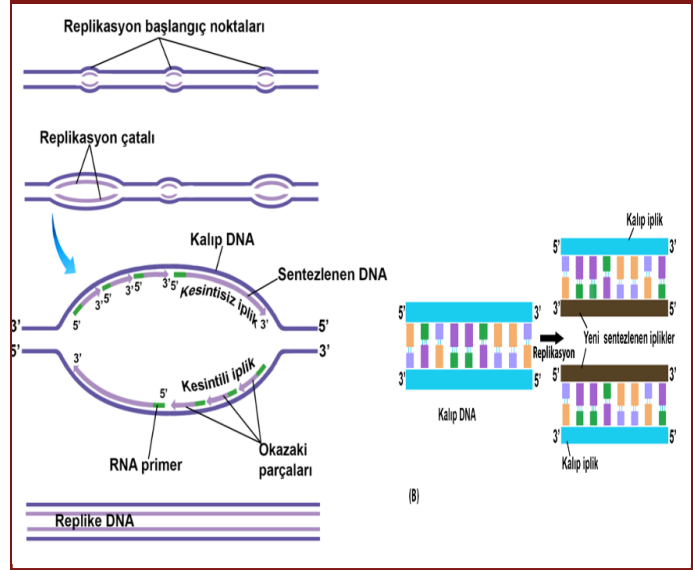
### DNA Replikasyonu

Bir hücrenin her bölünmesinde DNA molekülünün replikasyonu iki katına çıkıp kardeş hücrelere eşit olarak dağılması gereklidir. DNA'nın kendini eşlemesi olayına **replikasyon** adı verilir. DNA'nın iki ipliği de kalıp olarak kullanıldığından replikasyon **yarı koruyucu** bir işlemdir. Ökaryot ve prokaryot hücrelerde yarı koruyucu DNA replikasyonu 5' fosfat ucundan 3' OH ucuna doğru olmaktadır. Replikasyonda yeni DNA zincirine deoksiribonükleotit trifosfatların (dNTP'ler) eklenmesi için gerekli olan enzim DNA polimerazdır. Hem prokaryot hem de ökaryot hücreler **DNA replikasyonu ve tamiri** için farklı DNA polimerazlar içerir. Bakterilerde DNA polimeraz çeşitlerinden polimeraz III replikasyonu sağlar. Ökaryotik hücrelerin DNA replikasyonunda  **$\alpha$ ,  $\delta$  ve  $\epsilon$  DNA polimerazlar**, mitokondri DNA'sının replikasyonunda ise  **$\gamma$  DNA polimeraz** iş görür. Tüm polimerazlar uzayan zincirin sadece 3' ucu hidroksil grubuna bir dNTP ekleyerek DNA'yı **5'  $\rightarrow$  3' yönünde** sentezlerler. Polimeraz  $\alpha$  her iki iplik için primerleri yaparken, polimeraz  $\delta$  kesintili (lagging) ipliğin uzamasını, polimeraz  $\epsilon$  ise kesintisiz (leading) ipliğin uzamasını sağlar (Şekil 2).

Şekil 1. DNA ve RNA'daki pentoz şekerler (A), Bazların halka yapıları (B), Bir nükleotit (C).<sup>1</sup>

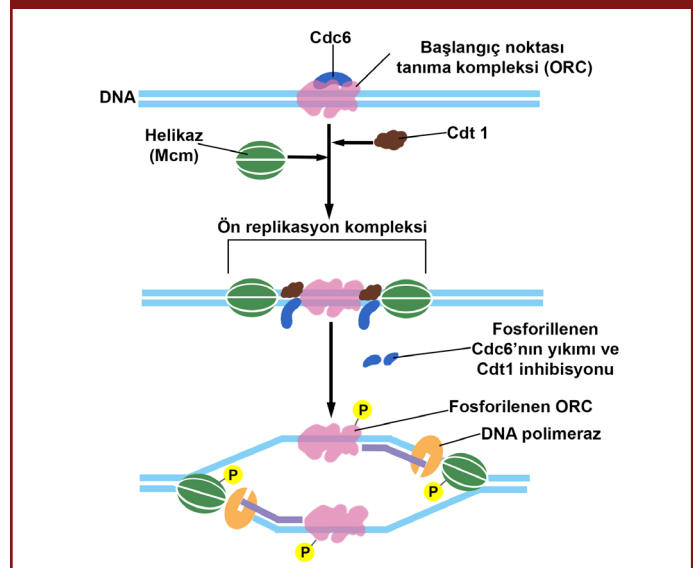


Şekil 2. Replikasyon çatallında DNA sentez yönleri, (B) kalıp DNA'nın replikasyonu



Bakterilerin halkasal DNA'sı tek bir replikasyon başlangıç noktası olarak birkaç yüz nükleotit uzunluğunda özel DNA dizileri içerir. Ökaryotik hücreler interfaz evresinin ~8 saat süren sentez (S) fazında replikasyonu gerçekleştirmek için çok sayıda replikasyon başlangıç noktasına sahiptirler. Replikasyon başlangıç noktaları genellikle başlatıcı gen bölgelerine yakın yerleşirler. DNA replikasyonunu başlatmak için **sikline bağımlı kinaz (Cdk) 2** aktivitesi gereklidir. **Başlangıç noktası tanıma kompleksi (ORC)** hücre dönüşü boyunca replikasyon başlangıç noktalarına bağlı kalır. G<sub>1</sub> evresinde **ön replikasyon kompleksi (ORC + helikaz (Mcm) + Cdt1 ve Cdc6 proteinleri)** replikasyon başlangıç noktalarına bağlandığında kromozomlar gelecek G<sub>1</sub> evresine kadar değişir buna **tanımlama (licensed)** denir. Bunun sonucunda hücre döngüsünde kromozomun herhangi bir bölgesinin iki kez replikasyonu önlenmiş olur (Şekil 3).

Şekil 3. G<sub>1</sub> evresinde tanımlama işlemi ve sentez evresinde DNA replikasyonu



Replikasyon başlangıcında baz çiftleri arasındaki hidrojen bağlarını koparan **helikaz** ile DNA çift sarmalı gevşer ve **tek iplik bağlayıcı proteinler** ayrılan iki ipliğe bağlanır. Bağlayıcı proteinler yanı sıra fosfodiester bağları kıran DNA **topoizomerazlar** süpersarmal DNA'nın gevşemesinde iş görürler. Topoizomeraz II inhibitörü olan *etoposid* çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanılan bir kemoterapi ilacıdır. Replikasyon çatalında açılan çift sarmal DNA ipliklerinin zıt yönlerine doğru iki yeni ipliğin sentezi gerçekleşir. Fakat sentezin sadece 5' → 3' yönünde yapılması sebebi ile kesintisiz ilerleyen ipliğin yanı sıra diğer ipliğin kesintili (Okazaki parçaları) uzaması ve DNA ligaz ile parçaların birleştirilmesi sonucu bu durum aşılmış olur. Okazaki ve arkadaşları bu kesintili replikasyon hipotezlerini (1968) radyoaktif işaretli T4 faj DNA'sı kullanarak göstermişlerdir. DNA replikasyonunda başlatıcı kısa RNA parçaları olan **primerler** iş görür. DNA sentezinin aksine RNA sentezi *de novo* başlayabilir ve **primaz** adı verilen enzim ile kısa RNA parçaları sentezlenir.

Ökaryotlarda primer oluşumunda polimeraz  $\alpha$  ve primaz birlikte çalışır. DNA polimeraz tarafından RNA primerlerinin uzatılması ile **Okazaki parçaları** sentezlenir. Ökaryotik DNA polimerazlardan  $\delta$ ,  $\epsilon$  ve E. coli için ise polimeraz III DNA'yı 3' → 5' yönünde hidrolize edebilen ekzonükleaz aktivitesine sahiptirler. DNA sentezinin ters yönünde çalışan ekzonükleaz yeni sentezlenen DNA'nın okuyup düzeltilmesine yardımcı olur. Ökaryotik hücrelerde RNA-DNA birleşmelerinden RNaz H enzimi ile RNA zinciri çıkarılır. DNA polimeraz ile Okazaki parçaları arasındaki boşluklar doldurulur ve **ligaz** enzimi ile DNA parçaları birleştirilir. Histonlar sitoplazmada sentezlenip nukleusa taşınırlar.

Yeni nukleozom oluşumu için DNA replikasyonu ve protein sentezi eş zamanlıdır. Her kromozom sentez evresinde kendine özgü zamanda DNA sentezini yapar. DNA segmentlerinin bazıları örneğin, doku spesifik genleri erken sentezlenirken bazıları örneğin; sentromer heterokromatini ve ekspresyon olmayan doku spesifik genleri geç sentezlenir. Aktif olmayan X kromozomunun replikasyonu daima en son biter. İnterfazın G<sub>2</sub> evresinde DNA replikasyonunun tamamlanıp tamamlanmadığı kontrol edilir. Replikasyonu tamamlayan hücre Cdk1 aktivasyonu ile mitoz bölünmeye başlar. **Mito-kondri DNA sentezi** ise nukleus DNA'sından farklı olarak **interfaz** boyunca gerçekleşir.

### DNA Tamir Mekanizmaları

Hemen hemen tüm organizmaların hücrelerinde DNA replikasyonu esnasında mutasyon oranı (insan genom dizisi ~ 3,2 × 10<sup>9</sup> nükleotit çifti) ~10<sup>10</sup> nükleotit başına bir nükleotit değişikliği olarak kabul edilir. Bu sayı DNA kopyasının mükemmel bir şekilde hatasız olarak yeni hücreye geçtiğini gösterir. DNA hasarı örneğin, G-C baz çifti etil-G-C şeklinde kimyasal bir değişikliğe uğrar ve tamir edilmezse replikasyonda C yerine T ile eşleşir bu da sonraki replikasyonda A-T değişimi olarak mutasyon nedeni olabilir. En iyi bilinen DNA tamir geni **p53**'dür.

Tüm genetik bilgiler bazı virüsler hariç DNA'nın her iki ipliğinde birer kopya taşındığından bir iplik hasar gördüğünde tamamlayıcı sağlam iplik ile tamir edilir. Bunun için çeşitli tamir mekanizmaları iş görür. DNA 5' → 3' yönünde sentezlendiğinden 3' ucuna eklenen yanlış bir baz eşleşmesi ekzonükleaz enzimi ile çıkarılır. Bakterilerde MutS ve MutL proteinleri ve ökaryotlarda MSH2, MSH6, MLH1, PMS2 gibi bakteri homolog proteinleri yanlış eşleşen baz tamirinde iş görürler. Genellikle DNA polimeraz ile hasar görme-

miş DNA dizisi kalıp olarak kullanılarak sentez yapılır ve DNA uçları ligaz ile birleştirilir. Ökaryot hücrelerin tamir mekanizmasında iş gören DNA polimeraz  $\beta$ 'nin okuyup düzeltme aktivitesi olmadığından oluşan hatalar apürinik endonükleaz 1 (APE1) ile düzeltilir.

**Baz kesip çıkarma tamir** mekanizmasında değişen pürin veya pirimidin bazlarını tanıyan **DNA glikozilazlar** baz ve şeker arasındaki N-glikozid bağı hidrolize ederek tek bazı veya beş baza kadar çıkarırlar. Endonükleaz ve fosfodiesteraz şeker fosfat grubunu çıkardığından tamir için oluşan boşluğa DNA polimeraz ile yeni nükleotit eklenir ve DNA uçları ligaz ile birleştirilir.

**Nükleotit kesip çıkarma tamir** mekanizmasında ise büyük bir enzim kompleksi DNA çift sarmalında tek bazdan ziyade büyük hasar olup olmadığını tarar. DNA hasarı örneğin, **pirimidin dimerleri** (T-T, T-C, C-C) olan yerde çift sarmal yapıyı **helikaz** enzimi açar ve nükleaz ile ~30 nükleotide kadar hasarlı bölge kesilip çıkarılır. DNA polimeraz ile zincir tamamlanır ve ligaz ile birleştirilir. DNA bazları reaktif metabolitler ile karşılaştığında zarar görür. Örneğin, güneşten gelen ultraviyole (UV) radyasyon ile DNA'daki iki komşu pirimidin bazı arasında kovalent bağ ile timin dimerleri meydana gelir. **Kseroderma pigmentozuma** sahip bireyler nükleotit kesip çıkarma eksikliğinden belirli DNA hasarlarını tamir edemezler. Bu kişilerde ultraviyole radyasyona aşırı hassasiyet, deri kanseri ve nörolojik anormallikler görülür.

Hücrede oluşan replikasyon hataları, radyasyon, oksitleyici maddeler ve diğer metabolitler **çift iplik kırılmalarına** neden olur. Bu kayıpların tamirinde iki mekanizma iş görür. **Homolog olmayan uçların birleşmesi** olurken kırık uçların tanınmasında Ku ve diğer proteinler rol oynar. DNA dizi kaybı ile birlikte uçların yeniden birleşmesi söz konusu olduğundan DNA hasar tamiri yapılırken mutasyon nedeni de olabilir. **Homolog rekombinasyon** ile sentez ve G<sub>2</sub> evrelerinde çift kırık kalıp olarak kardeş kromatid kullanılarak tamir edilir. Çoğu hücre bölünmeden önce DNA tamir mekanizmaları ile hasar giderildiğinden DNA hasarı büyükse hücre döngüsü sürelerinde gecikme olur.

**Yanlış eşleşme tamiri** DNA polimerazın hata okuması ile değişmeyen baz çifti nükleotitlerini düzeltir. İnsanda yanlış eşleşme tamiri yapılamazsa 1-4 bç tekrarları olan mikrosatellit dengesizliğine ve sonuçta kansere neden olur. Genellikle yukardaki DNA onarım mekanizmaları yetersiz kaldığında ağır hasarlı kalıp DNA'nın replikasyonuna izin veren özel **translezyon polimerazlar** vardır. Bu özel polimerazlar ile hasarlı bölge atlanır ve tamir replikasyondan sonraya bırakılmış olur.

Ökaryot kromozom uçlarında bulunan telomer DNA tekrar dizileri özel bir ters transkriptaz olan telomeraz enzim yapısındaki RNA kalıp dizisi kullanılarak 5' → 3' yönünde uzatılır. DNA polimeraz tarafından karşı iplikte DNA sentezi tamamlanır. Telomer uzunluğunu sabit tutan telomeraz enzimi somatik insan hücrelerinde etkin değildir. Bu nedenle hücre her bölündüğünde telomerler giderek kısalır. Oysa kanser hücrelerinin sonsuz bölünmesi için telomeraz enzim seviyeleri oldukça yüksektir.<sup>2-10</sup>

### Klinik Önemi

Kseroderma pigmentozum DNA hasar tamir bozukluğu ile oluşur.

Yanlış eşleşme tamir proteinlerindeki mutasyonlar kalıtsal polip dışı kolorektal kanser olan Lynch sendromuna yol açar.

---

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız

---

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Declaration of Interests:** The author declares that she has no competing interest.

## Kaynaklar

1. Ulutin T, Deviren A, Eds. *Temel Genetik* 2. bs. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul; 2016, 19-25.
2. Clark DP, Pazdernik NJ, McGehee MR. *Molecular Biology*. 3rd Ed. London, United Kingdom, Academic Press Elsevier, 2019. [\[Crossref\]](#)
3. Giannattasio M, Branzei D. DNA Replication through Strand Displacement during Lagging Strand DNA Synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes (Basel)*. 2019;10(2): 167. [\[Crossref\]](#)
4. Kunkel TA, Erie DA. Eukaryotic Mismatch Repair in Relation to DNA Replication. *Annu Rev Genet*. 2015;49: 291-313 [\[Crossref\]](#)
5. Williams JS, Tumbale PP, Arana ME, Rana JA, Williams RS, Kunkel TA. High-Fidelity DNA Ligation Enforces Accurate Okazaki Fragment Maturation during DNA Replication. *Nat Commun*. 2021;12(1): 482. [\[Crossref\]](#)
6. Brooker RJ. *Genetics: Analysis & Principles*. 4th Ed. New York, The McGraw-Hill Companies, 2012.
7. Lewis R. *Human Genetics Concepts and Applications*. 11th Ed. New York, McGraw-Hill Education, 2015.
8. Alberts B, Hopkin K, Johnson A, et al. *Essential Cell Biology*. 5th Ed. New York, W.W. Norton & Company, Inc., 2019.
9. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. *Thompson & Thompson. Genetics in Medicine*. 8th Ed. Elsevier Inc. 2016.
10. Hofmann A, Clokie S. Eds. *Wilson and Walker's Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*. Cambridge University Press, 2018. [\[Crossref\]](#)

# **BÖLÜM 5**

## **KROMOZOM VE ANOMALİLERİ**



## Kromozom ve Anomalileri

### *Chromosome and Chromosomal Abnormalities*

#### BÖLÜM HAKKINDA

Kromatinin yapısal birimi olan nukleozom, dört farklı histon çiftinin 2X (H2A, H2B, H3, H4) etrafını iki kez saran 147 bazlık DNA'dan oluşur. Kohezin proteini replikasyondan sonra kardeş kromatidleri bir arada tutarken kondensin kromozom yoğunlaşmasında iş görür. Ökaryotik kromozomlar genellikle bir sentromer bölgesi, her iki ucunda telomer bölgeleri, birçok gen ve replikasyon başlangıç noktalarını içerir. Mutasyon DNA dizisinde oluşan kalıtsal değişiklik ile fenotipi etkiler fakat popülasyonda nadir görülür. Bir bireyin kişisel genotipini tayin etmede DNA polimorfizmi önemlidir. Polimorfik bölgelerin biyobelirteç olarak kullanıldığı DNA parmak izi yöntemi babalık testlerinde kullanılır. Epigenom DNA molekülündeki değişikliklerden bağımsız olarak DNA ile ilişkili yapısal değişikliklerin tümünü içermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Kromatin, kromozom, mutasyon, polimorfizm, epigenetik

#### ABOUT the CHAPTER

The nucleosome, the structural unit of chromatin, consists of 147 base pairs of DNA wrapped around four different pairs of histones 2X (H2A, H2B, H3, H4). Cohesin protein holds sister chromatids together after replication, while condensin functions in chromosome condensation. Eukaryotic chromosomes usually contain a centromere region, telomere regions at both ends, many genes, and replication origins. Mutation affects phenotype by hereditary change in DNA sequence, but it is rare in the population. DNA polymorphism is important in determining a person's individual genotype. DNA fingerprinting method, in which polymorphic regions are used as biomarkers, is used in paternity tests. The epigenome includes all DNA-related structural changes, independent of changes in the DNA molecule.

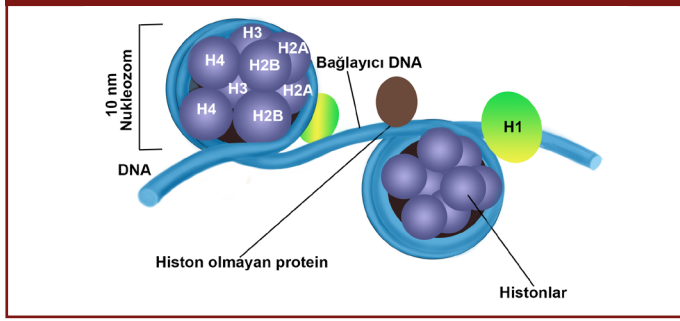
**Keywords:** Chromatin, chromosome, mutation, polymorphism, epigenetic

Ökaryotik hücrelerde genetik bilginin şifrelendiği DNA molekülü özel proteinlerle paketlenmiş olarak kromatin veya **kromozom** denen yapılar halinde nukleusda bulunur. İnterfaz evresi hücre nukleusunda kromatin materyali DNA, RNA, histon adı verilen bazik proteinler ve histon olmayan asit proteinlerden meydana gelir. Mitoz evresinde kromozom DNA'nın yaklaşık iki katı kadar olan histon ve histon olmayan proteinler ile az miktarda RNA'dan oluşur. Arjinin ve lizin amino asitlerinden zengin, pozitif yüklü histon proteinleri negatif yüklü DNA'ya iyonik bağlar ile bağlanır. Her histon molekülünün metil, asetil, fosfat gibi grupların eklendiği kuyruk kısımları bulunur. Histon asetilasyonu nukleozomların paketlenmesini gevşetirken metilasyon daha sıkı paketlenmeye sebep olur. Histon proteinlerindeki bu değişiklikler kromatinin açık ya da kapalı olmasına eşlik eden yardımcı proteinlerin DNA'ya bağlanmasına imkân verir. Ayrıca DNA üzerinde nukleozomların organizasyonunu değiştiren proteinler aracılığı ile kromatinin yeniden düzenlenmesi gerçekleşir. Histon olmayan proteinler çeşitli dokularda farklıdır. Bu proteinlere örnek; DNA polimeraz, RNA polimeraz ve düzenleyici proteinler verilebilir.

Ökaryotik hücrelerin nukleusları genellikle 5-10 µm çapındadır. Bu nedenle doğrusal uzunluğu ~2 m olan DNA'nın katlanarak nukleusun içine sığacak kadar küçülmesi nukleozomlar şeklinde paketlenmesi ile gerçekleşir. Kromatinin yapısal birimi **nukleozom**'dur. Her nukleozom dört farklı histon çiftinin **2X (H2A, H2B, H3, H4)** etrafında 147 bazlık DNA'nın dönmesi ile oluşur. 50-60 bp bitişik nukleozomlar arasında köprü oluşturur. Bu bağlayıcı DNA'ya nukleozom yoğunlaşmasında rol oynayan beşinci histon **H1 (bağlayıcı histon)** bağlanır. Bir nukleozomdan diğerine uzanan DNA molekülünün uzunluğu 200 baz çiftidir (Şekil 1).



Şekil 1. Nukleozom yapısı



Kromatin hücre aktivitesi esnasında değişik derecelerde kangallaşır. DNA'nın nukleozomlar şeklinde paketlenmesi ile boyu kısalır. İnsan kromozomlarında ~3 milyar baz çifti içeren DNA molekülü 46 adet kromozom içinde paketlenmektedir. Kromatin alt birimi **kromatozom** histon çekirdek bölgesi etrafına iki kez sarılmış ve H1 tarafından sabitlenmiş 147 baz çifti içeren DNA'dan oluşur. Nukleozomlardan oluşan iplikçik ~6 nukleozomda bir dönüş yaparak **solenoid** yapıyı (interfaz evresi 30 nm'lik fibril) oluşturur. Gittikçe yoğunlaşan solenoid yapı kangallımsı bir hal alır ve kromozom oluşur. Metafaz evresinde, 30 nm kalınlığındaki solenoid çok kez kıvrılır ve 1400 nm çapa iner. **Kromozom yoğunlaşmasında** beş alt üniteli kompleks bir protein olan **kondensin** rol oynar. Kondensin I veya kondensin II yapısında Smc (Structural maintenance of chromosomes)2 ve Smc4 esas alt üniteleri, kondensinle ilişkili protein (CAP) olarak üç farklı düzenleyici alt ünite ile (CAP-H/H2, CAP-G/G2, CAP-D2/D3) birlikte iş görmektedir. Örneğin, mayada Smc2 ve Smc4 alt üniteleri bağlayıcı protein olan Brn1 ile ilişkili Ycs4 ve Ycg1 proteinleriyle birlikte kromozom yoğunlaşmasında rol oynar. Dört alt üniteli kompleks bir protein olan **kohezine** (Smc1, Smc3, Scc1 ve Scc3) replikasyondan sonra kardeş kromatidleri bir arada tutar. **Cornelia de Lange sendromu** kohezine alt ünitelerinde meydana gelen bir mutasyon sonucu oluşabilir.

Kromozomun boğum bölgelerinde yer alan **sentromer** 171 baz çiftlik ardışık dizi tekrarlarını ~ 1 milyon baz çifti kadar içerir. Kromozomlara benzer şekilde sentromer, DNA ve protein yapısından oluşur. Hücre bölünmesinde iğ ipliklerinin bağlandığı yerlerdir. Sentromer kromatininde diğer kromatinlerdeki H3 yerine insanda bulunan sentromer protein-A (CENP-A) kromozom replike olurken sentromerler ile birlikte kalır. Kardeş kromatidler anafaz evresinde ayrılırken CENP-A içerdiklerinden bu protein bir sonraki kuşağa epigenetik değişiklik olarak geçer. **Kinetokor** mitoz ve mayoz bölünme esnasında iğ ipliklerinin bağlandığı sentromer bölgesinin üzerinde yer alan 50'den fazla farklı protein kompleksidir. İnsan kromozom uçlarında tekrar dizileri TTAGGG içeren **telomer** ve 500 kadar protein kodlayan gen içeren **telomer altı bölgeler** yer alır. Çeşitli deneyler sentromer ve telomer bölgelerinde yer alan çok sayıda tekrar dizilerinin DNA'nın kromozoma paketlenme işleminde rolü olduğunu göstermiştir.

Kromozomlar sentromer yerleşimlerine göre adlandırılırlar. Kromozom kollarını iki eşit uzunluğa bölen sentromer varsa kromozoma **metasentrik**, kromozom kollarının biri kısa diğer uzunsa **submetasentrik**, kromozomun bir kolu çok az materyal içeriyorsa **akrosentrik** denir. Kromozomun uzun kolu **q**, kısa kolu **p** olarak tanımlanır. **Karyotip** yani kromozom analizi bireyin kromozomlarının sayısı, şekil ve büyüklük bakımından incelenmesidir. Kromozom

sayı ve şekil düzeyindeki hastalıklar kişilerin gen düzenlemelerindeki bozukluklar ile ortaya çıkar. Karyotip klinik teşhisi doğrudur.

**X kromatini (Barr cisimciği)** insanda embriyonun 16-18. günleri arasında ortaya çıkar. Memeli dişi somatik hücrelerinde interfaz esnasında görülen iki X kromozomundan biridir. Erkeklerde X kromatini görülmez. Lyon adlı araştırmacı anne veya babadan gelen iki X kromozomundan herhangi birinin rastgele heterokromatik şekle dönüştüğünü, diğer X kromozomunun ise aktif olduğunu ileri sürmüştür. X kromatini insan yanak iç yüzeyindeki hücrelerde, nukleus membranına yakın granül şeklinde bulunur. Ayrıca nötrofil granülosit lökositlerin %1-10'unda parçalı loblu nukleusun bir ucunda davul tokmağı şeklinde görülür.

## Mutasyon

Mutationem (Latince) mutasyon (değişim) anlamında ilk kez Hugo de Vries tarafından kullanılmıştır. Mutasyon DNA dizisinde oluşan **kalıtsal değişiklik** ile fenotipi etkiler fakat popülasyonda nadir görülür. Mutasyon kendiliğinden (spontan) olabildiği gibi kimyasal etken veya radyasyon etkisi ile oluşabilir. Bir bireyin tüm somatik veya sadece gamet hücrelerinde mutasyon olabilir. Bir baz çifti değişikliği yanlış anlamalı, anlamsız ve sessiz mutasyonlara yol açabilir. **Yanlış anlamalı mutasyon**, baz çifti değişikliği ile yanlış amino asit kodlanır. Mutasyonla oluşan yeni bir amino asit proteinin işlevini bozabilir veya yok edebilir. Buna örnek, **orak hücreli anemi** hastalığında  $\beta$ -globin protein yapısında nokta mutasyonu ile değişen baz sonucu glutamat yerine valin amino asidinin girmesi ile kanda pıhtılaşma sorunu yaşanır. **Anlamsız mutasyon** baz çifti değişikliği amino asit yerine sonlandırıcı kodona karşılık gelir. AAA kodonun AAG olarak değişmesi de mutasyondur ancak her ikisi de lizin amino asidini kodladığından muhtemelen tespit edilemeyecektir. Böyle zararsız değişikliklere **sessiz mutasyon** denir.

Aynı gen farklı şekillerde farklı hastalıkların nedeni olabilir. Bir çift **alelik bozukluk** genin farklı mutasyonlarından örneğin; tek baz değişikliği eksik bir gen veya proteini etkileyecek şekillerde ortaya çıkabilir. **Çerçeve kayması mutasyonu** genin kodlayan bölgesine bir ya da daha fazla sayıda baz çifti ilavesi olan **insersiyon** veya **delesyon** (eksilme) sonucu meydana gelir. Bu değişiklik, okuma esnasında üçlü kodonların kaymasıyla sonuçlanır. **Duchenne kas distrofi** hastalığında küçük delesyonlar oldukça yaygındır bunlar çerçeve kaymasına neden olur ve distrofin proteini üretilmez. Oysa Becker kas distrofi hastaları protein okuma çerçevesinin korunduğu bir mutasyon taşıdıklarından az miktarda ve değişikliğe uğramış distrofin üretirler. Uzun DNA parçalarını etkileyen mutasyonlar olarak **translokasyon** (karşılıklı yer değiştirme) aynı kromozomda veya farklı kromozomlar arasında karşılıklı parçaların yer değiştirmesi, **duplikasyon** (artma) ardışık DNA parçalarının, **inversiyon** (180° ters dönme) bir DNA parçasının kesilip orijinal yerleşimine ters yönde tekrar yerleşmesi sayılabilir.

**Kendiliğinden mutasyon** genellikle DNA replikasyonunda bir hata sonucu ortaya çıkar. Ayrıca kendiliğinden mutasyon DNA bazlarının **tautomer** olarak adlandırılan kimyasal olarak izomerine değişmesinden sonra replikasyon ile çoğaltılmasından kaynaklanır. İki normal boydaki sağlıklı insanın otozomal dominant akondrop-lazili bir çocuğu varsa; ebeveyn gametinde yeni bir mutasyon veya çocukta DNA replikasyonunda bir hata sonucu yeni bir mutasyon olarak ortaya çıkmıştır. İnsan genomlarında kendiliğinden gelişen mutasyonlar oldukça yaygındır. Örneğin, yeni doğanlarda kalp ku-

surlarının en az %10'u ebeveynlerde bulunmayan mutasyonlar nedeniyle meydana gelir. Sadece sperm veya oositte mutasyon varsa ebeveyn **gonadal mozaiktir** çünkü gelişen testis veya ovaryumda mutasyon meydana gelmiştir. Daha sık (hotspot) mutasyona uğrayan kısa DNA tekrar dizileri örneğin, pıhtılaşma faktör IX genindeki CG tekrarlarının olduğu 11 bölgede 10-100 kat daha fazla mutasyon **hemofili B** nedenidir.

### Kromozom Mutasyonu

Kromozomların p veya q kollarında meydana gelen değişiklikler ile oluşan **yapısal mutasyonlardır**. Kromozomun yapısının yeniden düzenlendiği **translokasyon, duplikasyon, inversiyon, delesyon, ring** (halka oluşumu) ve **izokromozom** (kromozomun bir kolunda delesyon diğer kolunda duplikasyon) şeklinde görülebilir. Klinikte sık rastlanan kromozom mutasyonuna örnek, 5q delesyonu olan **miyelodisplastik sendromu** verebiliriz.

### Genom Mutasyonu

Genetik materyalde oluşan değişiklik oranının toplumda görülme sıklığı %1'den az ise **mutasyon**, %1'den fazla ise **polimorfizm** olarak tanımlanır. Mutasyonlar kişide negatif veya pozitif fenotipik özelliklere neden olabileceği gibi nötr yani etkisiz de olabilir. Mitoz veya mayoz bölünme esnasında kardeş kromozomların kutuplara eşit ayrılamaması sonucu öploidi ve anöploidi görülür. Genom mutasyonlarından **öploidi** durumu kromozom sayılarının katları (n) olarak örneğin; haploidi (n), triploidi (3n) artması veya eksilmesidir. **Anöploidi** durumunda kardeş kromozomların ayrılamaması nedeni ile bir kromozom çiftinde sayıca artma veya azalma meydana gelir. Monozomi (2n-1), trizomi (2n+1). Klinikte en sık görülen genom mutasyonlarına örnek; **Turner sendromu** (45, X) ve **Down sendromu** (47, XX, +21 veya 47, XY, +21) verilebilir.

### Gen Mutasyonu

Genin baz dizisinde meydana gelen değişimler gen mutasyonudur. DNA'nın replikasyonu veya onarımı sırasında oluşurlar. Replikasyon esnasında oluşan hata oranı her baz çifti başına  $\sim 10^{-10}$  olarak oldukça düşüktür. **Transizyon (geçiş)** bir pürin bazının (A, G  $\rightarrow$  G, A) veya bir pirimidin bazının (T, C  $\rightarrow$  ya da C, T) değişimi ile olurken, **transversiyon (çapraz)** pürin bazlarından birinin pirimidin bazlarından birine (A, G  $\rightarrow$  C, T) değişimi ile olur.

### Polimorfizm

Poly (çeşit) ve morphos (form) Grekçe kelimelerden oluşan polimorfizm bireyin fenotipik farklılıkları örneğin; deri, göz rengi veya biyokimyasal değişiklikleri, ABO kan grubu veya kromozom morfoloji değişiklikleri, satelit boyut ve yapısı veya en sıklıkla DNA nükleotit değişiklikleri **DNA polimorfizm** olarak adlandırılır. Her bireyin farklı olmasını sağlayan bireye özgü genomların  $\sim 99\%$ 'u benzer iken sadece  $\sim 1\%$ 'i farklıdır. Bir lokusda bulunan DNA dizisinin çeşitliliğine **alel** adı verilir. Toplumdaki bireylerin yarısından fazlasında bulunan alele **yabanıl (wild) alel** denir. Aynı lokus için yabanıl tip dışında görülen gen çeşitliliği mutasyondur. Polimorfizmler oldukça yaygınken mutasyonlar nadir olarak görülür.

Genomda meydana gelen bir değişikliğin popülasyonda veya bireyde bir farklılığa sebep olması polimorfizmdir. İnsan genomunda yaklaşık her 1000 bç'nin **tek nükleotit polimorfizm (SNP)** içerdiği bilinmektedir. En sık görülen tek nükleotit polimorfizminde hete-

rozigotluk veya homozigotluk gözlenir. SNP'ler amino asit değişikliğine veya dur kodonuna neden olabilirler. SNP'lerin gen ekspresyonu veya gen düzenlenmesini etkilemesi nedeni ile bireysel farklılıklar oluşabilir. SNP oluşumu tek nükleotit kaybı yani delesyon veya nükleotit kazanımı olan insersiyon sonucudur. Uluslararası haplotip harita (HapMap) projesi ile 10 milyondan fazla SNP bildirilmiştir.

Diğer DNA polimorfizm çeşitleri ise **sınırlayıcı enzim parça uzunluk polimorfizmi (RFLP)**, **değişken sayılı (7-10 bç) ardışık (tandem) tekrar (VNTR)** veya **kısa (2-6 bç) ardışık tekrar (STR)** birkaç veya 100 tekrara kadar olabilir. Minisatellit (VNTR) polimorfizmi lokusda 10-60 bç uzunluğunda ardışık tekrarların bulunduğu ve bireylerde tekrar eden çoklu alel sayılarını içerir. Mikrosatellit (STR)'ler adli vakalarda ve gen haritalandırma çalışmalarında kullanılmaktadır. RFLP, kesici (restriksiyon) enzimleri değişen DNA'da farklı uzunluklarda DNA parçalarının oluşumuna neden olur. VNTR lokusları STR lokuslarına göre genomda daha az sayıda bulunur. Polimorfizm ve DNA mutasyonlarının araştırılmasında genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (Genome-Wide Association Studies, **GWAS**) olarak genom üzerindeki belirteçlerin hastalıklarla ilişkilendirildiği bir yaklaşım kullanılmaktadır. GWAS yaklaşımı ile hastalıklarla ilişkili yeni SNP'ler ve varyantlar bulunabilir.

Polimorfizm bireyin hastalığa yakalanma riskini hesaplamada veya ilaçlara verdiği cevaplarda önemlidir. Polimorfik bölgeler biyobelirteç olarak kullanılarak **DNA parmak izi** (fingerprinting) yöntemi ile babalık testlerinin yapılmasında kullanılır. Alzheimer hastalığı genetik risk faktörü olarak tanımlanan lipit taşıyıcı apolipoprotein E (ApoE)'nin iki SNP ve üç aleli tespit edilmiştir. Alel ikinin (**E2**) hastalığın gelişiminde koruyucu etki yaptığı düşünülmektedir.

**İnsersiyon/delesyon (indel) polimorfizmi:** 1-10.000 bç arasında delesyon veya insersiyon dizi tekrarları indel polimorfizmi olarak adlandırılır. Genomda bilinen 15 milyon genetik değişikliğin 3 milyonu indel polimorfizmdir. İndel polimorfizmin hemen hemen yarısı replikasyon ve tamir hataları sonucu oluşurken çoklu alel içeren mikrosatellit polimorfizmi kodlama yapmayan bölgelerdeki tekrarları içerir.

Genomun yaklaşık yarısını oluşturan tekrar dizilerinin büyük çoğunluğunun hareketli olarak yer değiştirmesi **transpozal element polimorfizmidir**. Gen kopyaları genellikle bir anne ve bir babadan gelen olmak üzere iki kopya iken genomun  $\sim 10\%$ 'u iki veya daha fazla sayıda kopya içermektedir. Bu durum **kopya sayısı değişiklikleri** olarak adlandırılmaktadır. Anne ve babadan gelen homolog DNA'lar arasında bile kopya sayısı değişikliklerinin olması bireyin genetik farklılığını açıklamada önemlidir.<sup>1-7</sup>

### Epigenetik

Epigenetik kavramını ilk kez C. Waddington (1942) kullanmıştır. Waddington'a göre epigenetik; gelişim esnasında genotipin fenotipi nasıl oluşturduğunu inceleyen bilim dalıdır. Farklı hücreler aynı genomu taşımalarına rağmen neden farklıdırlar? Her hücrenin farklılaşması sırasında bazı genlerin açılması veya kapanması sonucu yaşam boyu farklılaşmanın sağlandığı epigenetik mekanizmalar ile organizmada hücrel farklılıklar devam ettirilir. **Epigenom** DNA molekülündeki değişikliklerden bağımsız olarak DNA ile ilişkili yapısal değişikliklerin tümünü içermektedir.

Epigenom çevresel etkenler altında genetik kodu değiştirmeden genin aktifleşmesini veya sessizleşmesini sağlayarak gen ekspresyonunu değiştirir. Genom ile birlikte epigenom gelişim, hücre farklılaşması veya hastalıkların gelişimi esnasında hücreye özgü gen ekspresyonlarının oluşumunda rol oynar. Epigenetik kromatin yapısındaki kalıtsal değişiklikler ile kalıtsal ve aynı zamanda geri dönüşümlüdür. Epigenetik mekanizmalar doğrudan veya dolaylı olarak gen ekspresyonunu kontrol ederler. Doğrudan gen ekspresyonunu kontrol eden mekanizmalar kromatin ve DNA değişiklikleri olmak üzere ikiye ayrılır. Dolaylı gen ekspresyonunu kontrol eden mekanizmalar ise kodlamayan RNA'ların (siRNA, miRNA vb.) mRNA üzerinden protein sentezini durdurmasını içerir.

### 1-Kromatin değişiklikleri

**Histon değişiklikleri:** Histon proteinlerinin amino uçlarındaki asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon, ubikitinasyon, sumolasyon gibi çeşitli translasyon sonrası değişimleri içerir. Asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon ve ubikitinasyonlar transkripsiyonun aktif hale gelmesinde etkili olan değişikliklerdir. Ubikitinasyon ve metilasyon aynı zamanda transkripsiyonun baskılanmasında da iş görürler. DNA'nın paketlenmesinde görevli olan histon proteinlerinin nukleozom yapısında çıkıntı yapan amino uçları örneğin; histon asetil transferaz enzimi ile asetillenirken, histon metil transferaz ile metillenir. Epigenetik kalıtımda histon değişiklikleri mitoz bölünme ile oluşan yavru hücrelere DNA aracılığı ile bilginin aktarılmadığı fakat aktarılan histon değişiklikleri ile çoğalan her hücrenin özel gen ekspresyonunu sürdürmesinde rol oynar. Translasyon sonrası gerçekleşen histon değişiklikleri histonların elektrostatik yükünü değiştirmekte böylece kromatinin gevşek veya sıkı paketlenmesini etkileyerek gen ekspresyonunun düzenlenmesinde iş görürler.

**Asetilasyon:** Asetilasyon, histonların amino ucunda yer alan lizin kalıntılarında asetil gruplarının bağlanmasıdır. Histonların asetilasyonu, histon asetil transferaz ve histon deasetilaz enzim aileleri arasındaki denge ile sağlanır. Histon asetilasyonu genellikle aktif transkripsiyon ile nukleozom bütünlüğü, kromozom yoğunlaşması, DNA replikasyonu, DNA tamir ve genom bütünlüğünün korunmasında önemlidir. Örneğin; H3 ve H4 histonları lizin kalıntılarının asetillenmesinin aktif kromatin durumunu sağladığı, deasetilasyonun ise aktif olmayan kromatin ile ilişkili olduğu bilinmektedir.

**Metilasyon:** S-adenozil metiyoninden alınan metil grubunun DNA metil transferaz enzimleri tarafından histon proteinlerinde bulunan amino asitlere bir, iki veya üç metil grubu eklenmesidir. DNA'da CpG (Sitozin-fosfat-Guanin) dinükleotidindeki sitozin bazının 5. karbonuna metil grubunun bağlanması ile 5-metil sitozin bazı oluşur. H3 lizin 4 üçlü metilasyonu, ökaryotların başlatıcı bölgelerini belirler. Kalıtsal ve geri dönüşümlü olabilen DNA metilasyonu gen sessizleştirilmesinde, gen ekspresyon kontrolünde, retrotranspozonların (RNA'dan ters transkripsiyon ile oluşan DNA) baskılanmasında, hücresel farklılaşma gibi önemli işlevlerde rol oynar. *Genomik baskılanma (imprinting)* bazı alellerin köken aldığı ebeveyne göre sadece epigenetik mekanizmalarla tek alelli gen ekspresyonunun yapılmasıdır. Memeli embriyo gelişiminde DNA metilasyonu genomik imprinting ile bazı genlerin ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynar.

**Fosforilasyon:** Histonların amino ucunda bulunan serin, treonin

ve tirozinlerin hidroksil gruplarına ATP'nin bir fosfat grubunun eklenmesi ile histon fosforilasyonu gerçekleşir. Histon proteinine fosfat grubunun eklenmesinin neden olduğu negatif elektrik yükü kromatin yapısının ve ilişkide olduğu diğer moleküllerle bağlantısının değişmesine sebep olur. Fosfat grubunun eklenmesini sağlayan protein kinazlar yanı sıra fosfat grubunun çıkarılmasını gerçekleştiren protein fosfatazlar ile histon fosforilasyon düzeyleri belirlenir. Örneğin; mitoz ve mayoz bölünmeler esnasında histon fosforilasyonu kromozom yoğunlaşmasında iş görür.

**Ubikitinasyon:** Ubikitinin karboksil ucundaki glisin ile histonların karboksil ucundaki lizin kalıntısının arasında bağ oluşumu ile histon ubikitinasyonu gerçekleşir. Histon ubikitinasyonu H2A ve H2B histon proteinlerinde H2AK119 ve H2BK120 bölgelerinde görülür. H2AK119ub1 gen sessizleşmesinde, H2B123ub1 transkripsiyon hızının düzenlenmesinde önemlidir.

**Sumolasyon:** Memelilerde dört adet homoloğu olan SUMO (small ubiquitin-related modifier) proteinleri ubikitin-proteazom sistemini dengeleyerek protein homeostazına katkıda bulunur. SUMO proteinleri lizin kalıntılarında hedef proteinlere bağlanarak proteini aktifleştirir veya parçalanmasını önler.

### 2- DNA değişiklikleri

CpG adacıkları olarak bilinen 500 baz çiftinden büyük, GC içeriğinin %55'den fazla olduğu bölgelerde sitozinin 5. karbonuna bir metil grubunun bağlanması ile DNA metilasyonu oluşur. Genin başlatıcı bölgesindeki metillenmiş CpG'ler genin transkripsiyonunu engelleyerek gen ekspresyonunu baskılar. Genom metilasyon haritalama çalışmaları, DNA metilasyonunun transkripsiyon başlangıç bölgelerinde, intron ve ekzon bölgelerinde, düzenleyici bölgelerde ve tekrar dizilerinde yer aldığını göstermektedir. Housekeeping ve düzenleyici genlerde bulunan CpG adacık bölgeleri, DNA metilasyonuna karşı dirençlidir. Heterokromatin bölgelerinde bulunan CpG dizilerinde ise DNA metilasyon oranı yüksektir.

### Kodlamayan RNA

Kodlamayan RNA (ncRNA)'lar DNA'dan transkripsiyonu olan fakat proteine çevrilmeyen RNA'lardır. ncRNA'lar housekeeping RNA'lar ve düzenleyici RNA'ları içerir. Memelilerde kısa ncRNA'lar olarak mikroRNA (miRNA), small interfering RNA (siRNA), P element induced wimpy testis proteini etkileşimli RNA (pi-RNA) bulunmaktadır. Örneğin, miR-96 gen mutasyonları yetişkinlerde ilerleyici işitme kaybına neden olabilir.<sup>8-10</sup>

### Klinik Önemi

Cornelia de Lange sendromu kohezinin alt ünitelerinde meydana gelen bir mutasyon sonucu oluşabilir.

Turner ve Down sendromları genom mutasyonları ile oluşur.

Duchenne kas distrofi hastalığında çerçeve kayması mutasyonu ile distrofin proteini üretilemez.

Orak hücre anemi hastalığı  $\beta$  globülin genindeki nokta mutasyonu ile oluşur.

---

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız

---

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Declaration of Interests:** The author declares that she has no competing interest.

## Kaynaklar

1. Karki R, Pandya D, Elston RC, Ferlini C. Defining "Mutation" and "Polymorphism" in the Era of Personal Genomics. *BMC Med Genomics*. 2015;8: 37. [\[Crossref\]](#)
2. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. *Thompson & Thompson. Genetics in Medicine*. 8<sup>th</sup> Ed. Elsevier Inc. 2016.
3. Plopper G, Sharp D, Sikorski E. *Lewin's Cells*. 3<sup>rd</sup> Ed. Jones & Bartlett Learning, 2015.
4. Speicher MR, Antonarakis SE, Motulsky AG. *Vogel and Motulsky's Human Genetics. Problems and Approach*. 4<sup>th</sup> Ed. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag, 2010. [\[Crossref\]](#)
5. Hofmann A, Clokie S. Eds. *Wilson and Walker's Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*. Cambridge University Press, 2018. [\[Crossref\]](#)
6. Viotti M. Preimplantation Genetic Testing for Chromosomal Abnormalities: Aneuploidy, Mosaicism, and Structural Rearrangements. *Genes (Basel)*. 2020;11(6): 602. [\[Crossref\]](#)
7. Rimoin DL, Pyeritz RE, Korf BR. *Emery and Rimoin's Essential Medical Genetics*. USA, Elsevier, 2013.
8. Tollefsbol TO. Ed. 2<sup>nd</sup> Ed. *Handbook of Epigenetics*. The New Molecular and Medical Genetics. Elsevier Inc., 2017.
9. Lodish H, Berk A, Kaiser C, et al. *Molecular Cell Biology*. 9<sup>th</sup> Ed. Macmillan Learning, 2021.
10. Pollard TD, Earnshaw WC, Lippincott-Schwartz J, Johnson GT. *Cell Biology*. 3<sup>rd</sup> Ed. Philadelphia, Elsevier, 2017.

# **BÖLÜM 6**

## **GEN EKSPRESYONU VE PROTEOMİK**

# Gen Ekspresyonu ve Proteomik

## Gene expression and Proteomics

### BÖLÜM HAKKINDA

Genetik bilginin transkripsiyon ile DNA'dan mRNA'ya ve tranlasyon ile protein ürünlerine çevrilmesine gen ekspresyonu adı verilir. Ökaryot gen ekspresyon kontrolü genom, transkripsiyon, RNA işlenmesi, translasyon ve translasyon sonrası işlemleri kapsar. Ökaryot hücrelerde yüzlerce transkripsiyon faktörünün farklı birleşimlerinin transkripsiyon kontrol bölgelerine bağlanması ile her bir genin farklı transkripsiyonu gerçekleşir. Ökaryotlarda mRNA'nın işlenmesi, her iki uçta transkript ürünlerinin değişimini ve intronların çıkarılmasını içerir. Protein sentezi elliden fazla ribozomal protein ve çeşitli RNA molekülleri ile ribozomlarda gerçekleşir. Ökaryot hücrelerin mRNA'sında sadece bir polipeptit zinciri için bilgi vardır. Bakteri mRNA'sı birden fazla polipeptite ait bilgi taşır. Proteomik, hücre veya organizmada bulunan tüm proteinlerin miktarlarını, yerleşimlerini, fonksiyonlarını ve birbirleri ile olan bağlantısalıklarını araştırır.

**Anahtar kelimeler:** Gen ekspresyonu ve kontrolü, ribozom, protein sentezi, proteomik

### ABOUT the CHAPTER

The translation of genetic information from DNA to mRNA by transcription and to protein products by translation is called gene expression. Eukaryotic gene expression control includes the genome, transcription, RNA processing, translation and post-translation. In eukaryotic cells, different combinations of hundreds of transcription factors bind to transcriptional control regions, resulting in different transcriptions of each gene. Processing of mRNA in eukaryotes involves modification of transcript products at both ends and removal of introns. Protein synthesis is carried out on ribosomes with more than fifty ribosomal proteins and various RNA molecules. There is information for only a single polypeptide chain in the mRNA of eukaryotic cells. Bacterial mRNA encodes multiple polypeptides. Proteomics investigates the quantifying, localization, functions, and protein-protein interaction networks of all proteins in a cell or organism.

**Keywords:** Gene expression and control, ribosome, protein synthesis, proteomics



DNA molekülünde şifrelenmiş genetik bilginin transkripsiyon ile mRNA'ya ve tranlasyon ile protein ürünlerine çevrilmesine **gen ekspresyonu** (anlatımı) adı verilir (Şekil 1). Bir memeli hücresi ~10.000 çeşit protein içerir. Bir maya hücresinin toplamda ~42 milyon protein içerdiği tahmin edilmektedir. Hücrede bunlardan bazılarının kopya sayısı yarım milyondan fazla iken bazıları 10 molekülden az sayıda bulunur. Genlerin çoğunun ekspresyonu seçici olarak belirli zamanlarda hücrenin ihtiyacına göre yapılır. Bu seçicilik hücrelerin metabolik olarak tasarruflu olmasını ve özel fonksiyonlarını gerçekleştirmesini sağlar.

### Bakterilerde Gen Ekspresyonu ve Düzenlenmesi

*E. coli* bakterisine ait RNA polimeraz altı alt üniteli bir enzim olup spesifik olmayan bir şekilde DNA'ya bağlanıp *de novo* transkripsiyonu başlatır. RNA polimerazın gen transkripsiyonu başlatmak için bağlandığı DNA dizisi başlatıcı (*promoter*) olarak adlandırılır. *E. coli* başlatıcı bölgesi transkripsiyon başlangıç noktasının yukarısında (upstream) yani 5' ucuna doğru -35 ve -10 baz çiftlik iki dizi içerir. RNA polimerazın sigma ( $\sigma$ ) alt ünitesinin bu dizilere bağlanmasıyla transkripsiyon başlar. Daha sonra  $\sigma$  alt ünitesi ayrılır ve DNA, RNA polimeraz tarafından okunarak zincir uzatılır. RNA sentezi, polimeraz bir sonlandırma sinyali ile karşılaşana kadar devam eder. RNA polimeraz kalıp DNA'dan ayrılır (Şekil 2A).

Bakteride çoğu genin ekspresyonu RNA veya protein miktarına göre düzenlenirken ör-



neğin, glikoliz enzimleri için sürekli gen ekspresyonu devam eder. Bakteriler sentezlenen enzime bağlı olarak katabolik veya anabolik iki çeşit ekspresyon yolu izlerler. *Katabolik* yolun en iyi anlaşılabilir örneği, disakkarit olan laktozu glukoz ve galaktoza parçalayan enzimlerdir. Ortamda substrat olan laktozun varlığı veya yokluğuna göre  $\beta$ -galaktosidaz sentezi yapılır. *Anabolik* yolda ise hücre için üretilen son ürünün konsantrasyonu ile ters orantılı olarak gen ekspresyonu yapılır. Bu yolun en bilinen örneği triptofan varlığında, triptofan sentezi için gerekli enzimlerin ekspresyonunun baskılanmasıdır.

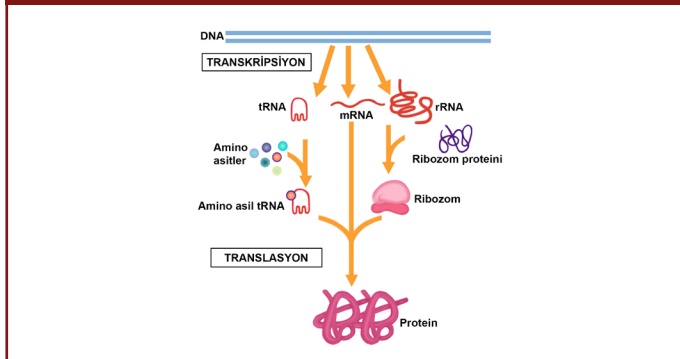
**CRISPR/ Cas** (Düzenli aralıklarla kısa palindromik tekrar kümeleri/CRISPR ile ilişkili sistem) ile bakterilerin virüs ve plazmitlere karşı kazanılmış bağışıklık sistemi geliştirdikleri tespit edildi. Bakteriler, yabancı DNA'yı CRISPR ara parçalarından biri ile eşleştiği zaman keserek çıkarırlar.

Cas9 enzimi DNA ipliklerinde çift zincir kırıkları ile indel mutasyon oluşumuna ve erken sonlanma kodunu oluşturarak gen susturulmasına neden olmaktadır. Gen düzenleme teknolojisi olarak CRISPR/Cas9 çift zincir kırıklarının tamirinde hassas bir düzenleme imkânı sunar. CRISPR/ Cas'ın ilk klinik tedavi uygulaması (2016) akciğer kanserli hastalarda yapıldı.

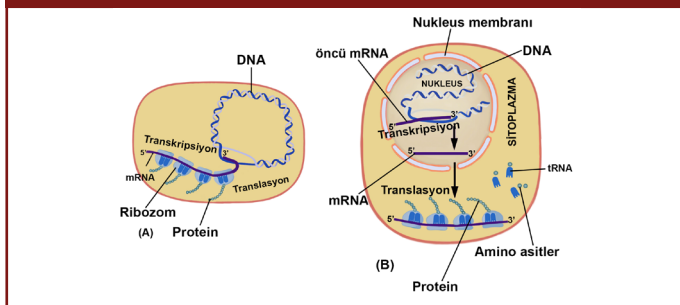
## Ökaryotik Gen Ekspresyonu ve Düzenlenmesi

Ökaryotik genomlar genellikle bakterilerden çok daha büyüktür ve protein sentezinin yapıldığı sitozolden bir nükleus membranı ile ayrılırlar (Şekil 2B). Çok hücreli ökaryotlar farklılaşmış çok sayıda hücrenin bir araya gelmesi ile doku ve organları oluşturduklarından bakteri gen ekspresyonundan oldukça farklıdır. Çünkü özelleşmiş her hücrenin ihtiyacı olan gen ekspresyonunu yapabilmesi ve bunun seçici kontrolü gerekmektedir.

Şekil 1. Transkripsiyon ve translasyon aşamaları ile gen ekspresyonu



Şekil 2. Prokaryot (bakteri) (A) ve ökaryot hücrelerde (B) gen ekspresyon aşamaları



**Ökaryot gen ekspresyon kontrolü** *genom, transkripsiyon, RNA işlenmesi ve nükleusdan sitoplazmaya geçiş, translasyon, translasyon sonrası işlemler* olmak üzere beş aşamada gerçekleşir. Transkripsiyon sonrası üç aşamada yer alan tüm işlemlere transkripsiyon sonrası kontrol adı da verilir.

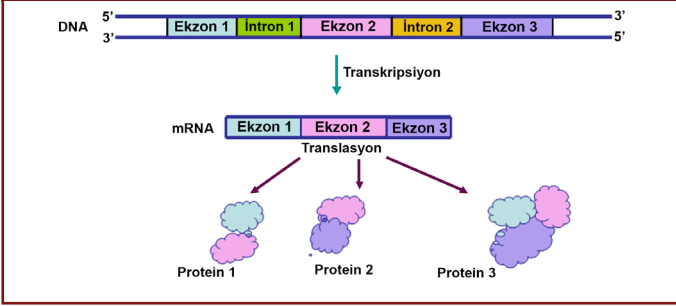
**1-Genom** aşamasında, gen delesyonu veya amplifikasyonu (çoğaltılması), metilasyon, asetilasyon gibi histon değişiklikleri ve kromatin yoğunlaşması, kodlamayan RNAlar ile DNA'nın yeniden düzenlenmesi gerçekleşir. Memeli genom içeriğinde protein kodlayan gen sayısı ~ 20.000 iken her insan  $10^7$ 'den fazla farklı antikör molekülü üretebilir. Örneğin, immüoglobülin çeşitliliği hafif zincir değişken (V), birleştirme (J) bölgelerinin ve ağır zincirde V, J ve D (çeşitlilik) bölgelerinin farklı birleşimler ile yeniden düzenlenmesinden kaynaklanır. Delesyon veya insersiyon kaynaklı mutasyonlar bu çeşitliliği artırır. Genom yapısında bir genin kopya sayılarının gen amplifikasyonu ile artması örneğin, T hücre reseptör genlerinin yeniden düzenlenmesi yapılabilir. Günümüzde T hücre reseptörüne bağlı antijen bağlama bölgesi içeren yani kimerik antijen reseptörü (CAR)'nın hastanın T hücrelerine tanıtıldığı **CAR-T hücre tedavisi** yönteminde, tümör yüzeyindeki antijenleri tanıyan T lenfositler kültürde çoğaltılır ve hastaya geri verilir.

**2-Transkripsiyon** yani DNA'nın RNA'ya çevrilme işleminde model organizma olarak kullanılan *E.coli* bulguları ökaryotik hücre transkripsiyonu anlamamızı kolaylaştırmıştır. Bakterilerin aksine ökaryotik hücrelerde her biri 12-17 alt ünitelerden oluşan üç farklı RNA polimeraz, farklı RNA'ların transkripsiyonunda iş görür. Protein kodlayan mRNA genleri, miRNAlar ve uzun kodlamayan RNA (lncRNA)'ların transkripsiyonu **RNA polimeraz II** tarafından yapılır. Ribozomal RNA (rRNA)'lar **RNA polimeraz I, III** ve transfer RNA (tRNA)'lar **RNA polimeraz III** tarafından çevrilir. Mitokondri RNA polimerazları ise bakteri enzimleri ile benzerdir. Bakterilerde RNA sentezini başlatan polimeraz  $\sigma$  alt ünitesinden farklı olarak ökaryot RNA polimerazların sentezi başlatılması için *genel transkripsiyon faktörleri* eklenir. Transkripsiyon başlangıç noktasının 25-30 nükleotit yukarısında yer alan TATA kutusu (TA-TAA) bakterideki başlatıcı -10 dizisine benzer. Ayrıca 35 nükleotit yukarısında TFIIIB tanıyan BRE yanı sıra transkripsiyon başlangıç noktasının aşağısında da çeşitli diziler bulunur. RNA polimeraz II başlatıcılarının %10-20'si TATA kutusu içermekte, geri kalanında farklı birleşimler ile farklı dizileri tanıyan RNA polimeraz ek proteinler ile birlikte kompleks oluşturarak transkripsiyonu başlatır. Büyük bir protein kompleks olan aracı (mediator) hem RNA polimeraz II hem de başlatıcıdaki genel ve gene özgü transkripsiyon faktörleri ile birlikte *ön transkripsiyon başlama kompleksini* oluşturur. Polimerazın C ucunun fosforilasyonu ile polimeraz, aracı ve diğer transkripsiyon faktörlerinden ayrılır ve transkripsiyona devam eder. Diğer RNA polimerazlarda, polimeraz II gibi başlatıcı dizilerine bağlanmak için çeşitli transkripsiyon faktörlerine ihtiyaç duyarlar. Ökaryotlarda her bir genin transkripsiyonun farklı hücre tiplerinde ayrı olarak düzenlenmesi, yüzlerce transkripsiyon faktörünün farklı birleşimlerinin transkripsiyon kontrol bölgelerine bağlanması ile gerçekleşir.

**3-RNA işlenmesi** bakteri mRNAları için gerekli değildir çünkü transkripsiyon devam ederken protein sentezi için hemen kullanılırlar. Oysa ökaryotlarda yeni sentezlenen öncü mRNA'nın intronlarının kesilip çıkarılması, *nükleusdan sitoplazmaya geçiş* gibi işlemler ile fonksiyonel RNA'ya dönüşmesi gerekir. Bakteriler ve ökaryot hücrelerde ribozomal ve transfer RNAların temel işleme mekanizmaları ise benzerdir. *rRNA'nın işlenmesi* öncü olarak sentezlenen büyük rRNA'nın kesilmesi, riboz metilasyonu ve üridinin psödoüridine dönüşümünü içerir. Nükleolusda bulunan



~200 küçük nukleolar RNA (snoRNA)'nın 300'den fazla protein ile birlikte oluşturduğu kompleks olan küçük nukleolar ribonükleo-protein partiküller (snoRNP'ler) öncü rRNA'ların işlenmesinde iş görürler. snoRNA'lar, 18S veya 28S rRNA'ya tamamlayıcı ~15 nükleotitten oluşan kısa diziler içerir ve baz eşleşmesi ile metilasyon veya psödoüridin'in doğru oluşmasından sorumludurlar. Hem bakteri hem de ökaryot tRNA'ları da öncü uzun moleküllerden sentezlenir. Öncü tRNA'lardan tRNA'ların oluşumu RNaz P olarak adlandırılan bir enzim olan *ribozim* tarafından kataliz edilir. Ayrıca tüm tRNA'ların 3' ucuna amino asitin tutunduğu CCA dizisi eklenir ve çok sayıda baz değişiklikleri oluşur. Bazı öncü tRNA'ların içerdiği intron bölgeleri endonükleaz ile kesilir ve ekzon bölgeleri birleşir. Bakteriler ve ökaryotik hücrelerde mRNA'ların işlenmesi önemli farklılıklar içerir. *Ökaryotlarda mRNA'nın işlenmesi*, her iki uçta transkript ürünlerinin değişimini ve intronların çıkarılmasını içerir. Öncü mRNA değişiklikleri, 5' ucuna 7-metilguanozin ( $m^7G$ ) keş ve 3' ucuna ise poliadenilasyon yani ~200 adenin (A)'den oluşan *poli A kuyruk* ilavesiyle oluşur. Keş ve poliadenilasyon, mRNA translasyonu ve stabilitesini etkileyen değişikliklerdir. RNA'nın ilk 20-30 nükleotit transkripsiyonunu takiben eklenen 5' keş ucu aynı zamanda mRNA'nın ribozoma yerleşmesinde iş görür. Küçük nukleolar RNA (snRNA) ve proteinler birlikte küçük nukleolar ribonükleoprotein partikülleri (snRNP'leri) yani *splayozom* yapısını oluşturur ve bu kompleks yapı öncü mRNA'dan intronların kesilip çıkarılmasında iş görür. Öncü mRNA'da alternatif kesilmeler ile ekzonların birleşmesi, aynı genden farklı mRNA'ların üretimine ve böylece gen ekspresyonunun düzenlenmesine katkıda bulunur. Alternatif kesilme ve eklenmeler, gelişim ve farklılaşma sırasında protein çeşitliliğine büyük katkı sağlar (Şekil 3).

Şekil 3. Alternatif kesilme<sup>1</sup>

Intronların kesilip çıkarılmasındaki anormallikler ile ilgili insanda 200'den fazla hastalık örneğin, çeşitli tipde kanserler tanımlanmıştır. Globin gen kesim yerindeki mutasyon, öncü mRNA'ların eritroid nukleuslarında işlenmesine engel olduğundan kalıtsal talasemi hastalığında çok düşük globin protein seviyeleri görülür. RNA düzeltme işlemi bazı memeli genlerinde görülen baz değişimleridir. Örneğin, dokuya özgü düzenlenme ile Apo-B mRNA'sının karaciğer ve bağırsakta fonksiyonel olarak farklı iki protein ekspresyonu yapılır. Karaciğerde üretilen Apo-B100 kanda lipitleri taşır. Bağırsaklarda C'nin U'ya değiştiği mRNA translasyonu ile üretilen Apo-B48 ise lipitlerin emiliminde iş görür. Memeli hücre mRNA'larının yarı ömürleri 30' ile 20 saat arasında değiştiğinden mRNA yıkımı ile ökaryotik hücre mRNA seviyeleri düzenlenir. mRNA'ların sitoplazmada yıkımı poli A kuyruklarının kısalması ile başlar daha sonra 5' ucundaki keş çıkarılır. Her iki ucundan nukleazlar ile kısalma gerçekleşir. Hücre dışı sinyaller ile mRNA'nın 3' ucundaki AU bakımından zengin dizilerine bağlanan proteinler hücrenin çevresel şartlarına göre yıkım hızını kontrol ederler. Ayrıca mRNA yıkımında miRNA'larda iş görür.

**4-Translasyon**, protein sentez ünitesi olan ribozomlar tarafından katalizlenir. Hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda hücresel proteinler sitozol içindeki ribozomlar tarafından sentezlenir.

### Ribozom

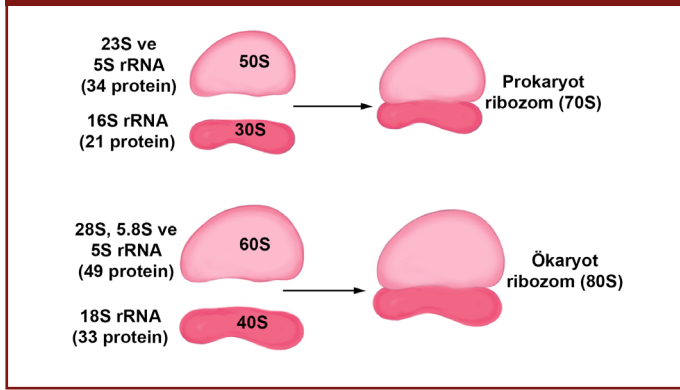
Ribozom virüsler hariç prokaryotik ve ökaryotik hücrelerin yapısında bulunur. Ribozomlar bir membranla çevrili değildir, 150-200 Å çapa sahiptir, ışık mikroskobu ile görülemediği için elektron mikroskobunda tanımlanmıştır. 1960'larda protein sentezinin el-liden fazla farklı ribozomal (r) protein ve çeşitli RNA moleküllerinden oluşan ribozomlarda meydana geldiği açıklanmıştır. 1968 yılında Masayasu Nomura saflaştırılmış r-proteinler ve rRNA'ların uygun şartlarda fonksiyonel ribozom oluşturduğunu göstermiştir. Bir ökaryot hücre sitoplazmasında milyonlarca ribozom bulunur. Örneğin, hızlı büyüyen memeli hücreleri ~10 milyon ribozom içerir. 1970'lerde r-proteinlerinin analizi iki boyutlu jel elektroforez tekniği ile yapılmıştır. 2000 yılına gelindiğinde ribozomun alt ünitelerinin **üç boyutlu yapısı, X ışını kristallografi tekniği** ile aydınlatılmıştır. X ışını kristallografisi ile r-proteinlerin genellikle yüzeyde yerleştiği görülür. rRNA büyüklükleri ultrasantrifüj ile saptanabilir. Ribozomlar negatif elektrik yüklü olduklarından bazik boyalarla iyi boyanırlar. Ribozomların ağırlığının 1/3'i protein, 2/3'si rRNA'dır. Medulla spinalisdeki multipolar nöronların perikaryonunda yer alan ve *Nissl cisimcikleri* olarak adlandırılan yapılar elektron mikroskop ile incelendiğinde poliribozom ve GER topluluklarından oluştuğu görülmüştür. Belli sayıda ribozomun biraraya gelmesiyle oluşan yapıya **polizom** veya poliribozom adı verilir. Polizomlar farklı şekillerde; yuvarlak, dalgalı veya spiral olabilirler. Polizom oluşumuna katılan ribozomların küçük alt üniteleri mRNA molekülüne bağlıdır. Polizomların boyutu sentezlenen polipeptitin boyutu ile bağlantılıdır. rRNA'lar hücredeki total RNA'nın %80'ninden fazlasını oluştururlar. rRNA'ların %70 kadarı A-U baz eşleşmeleri yaparak çift zincirli hale geçer ve katlanmalar yaparlar. Bu katlanmalar arasında çeşitli r-proteinler yerleşir.

**Prokaryotlarda** ve ökaryotların mitokondrilerinde ve kloroplastlarında yer alan ribozomların yapısı **70S**'dir. Büyük alt birim 50S, küçük alt birim 30S özelliğindedir. **Svedberg** birimi olarak **S**, molekülün büyüklüğüne ve şekline göre ultrasantrifüjdeki çökme hızını ifade eder. Prokaryot grubuna ait ribozomların küçük alt biriminde 16S rRNA ve 21 protein, büyük alt biriminde 23S rRNA, 5S rRNA ve 34 protein bulunur. *E. coli* ribozomu (70S) küçük alt ünitesi olan 30S mRNA'yı okurken 50S büyük alt ünitesi ise peptid bağları oluşumu ile amino asitleri bağlar. Ribozomun üç tRNA bağlama bölgesi P (peptidil), A (amino açıl) ve E (exit) olarak adlandırılır. Ribozomun P bölgesine gelen ilk amino asit ile A bölgesine gelen 2. amino asit arasında **peptid bağı** oluşur. mRNA kodonuna karşılık gelen tRNA antikodunu ile tam eşleşme küçük alt ünite de gerçekleşir. tRNA'nın ribozomda bağlanma yeri esas olarak RNA'dır. **Ökaryot 80S** ribozomların büyük alt birimi 60S, küçük alt birimi 40S'dir. Ökaryot ribozomların küçük alt biriminde 18S rRNA ve 33 protein, büyük alt biriminde ise 28S rRNA, 5S rRNA, 5.8S rRNA ve 49 protein bulunur (Şekil 4).

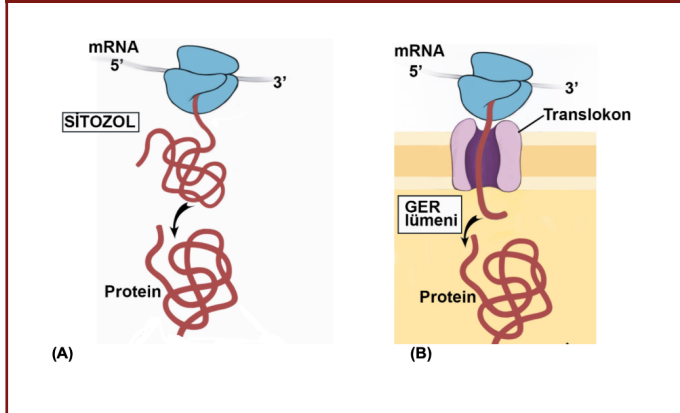
Protein sentezi aşamasında sitoplazmada ayrı ayrı duran alt birimler yüksek magnezyum konsantrasyonlarında birleşir ve sentez bittikten sonra yine ayrılırlar. 5S rRNA ribozomun her iki alt ünite yapısında yer aldığından menteşe görevi görür. tRNA'ların taşıdığı amino asitler büyük alt ünite de yer alan **peptidil transferaz** ile peptid bağı oluştururlar. Büyüyen peptid zinciri büyük alt ünite deki delikten çıkar. Ribozomlar sitoplazmada **serbest** gra-

nüller halinde veya endoplazmik retikulum zarının sitoplazmaya bakan dış yüzüne **bağlı** olarak bulunurlar. Bağlı formlar granüllü endoplazmik retikulum (**GER**) yapısında yer alır ve sadece ökaryot hücrelerde görülürler. Serbest ribozomların oluşturduğu polizomlarda hücrenin kendisinde kalacak olan yapısal proteinler sentezlenir (Şekil 5A). Bu proteinler ya sitozolda kalır ya da nukleus, mitokondri, kloroplast ve peroksizomlara taşınırlar. Serbest ribozomlar özellikle embriyonik hücrelerde, oositlerde, keratinositlerde, tümör hücrelerinde ve prokaryotik hücrelerde daha fazla bulunur. Sinyal dizisi içeren bağlı ribozomlarda sentezlenen proteinler ya ER içinde kalır ya da nukleus membranına veya peroksizom membranına taşınırlar. ER lümeninden Golgi kompleksine taşınan proteinler ise endozomlara ve lizozomlara, plazma membranına katılır veya salgı vezikülleri olarak hücre dışına verilir (Şekil 5B).

Şekil 4. Prokaryot ve ökaryot ribozom yapıları



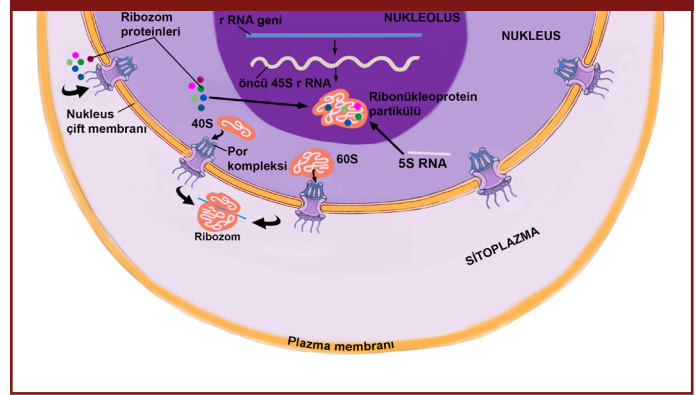
Şekil 5A-B. Poliribozom (A) ve ve GER'de (B) sentezlenen proteinler



RNA hem genetik bilgiyi taşımaları hemde kimyasal reaksiyonları katalize etmesi bakımından önemlidir. RNA molekülleri katalitik aktivite göstermeleri nedeniyle **ribozim** olarak adlandırılırlar. rRNA molekülleri ve r-proteinler, protein sentezinde sırasıyla katalizleyici ve bağlayıcı görevlere sahiptir. rRNA'ların katalitik aktivitelerine ilişkin ilk kanıt, r-proteinlerin ~%90'ı uzaklaştırıldığında bile peptid bağı oluşumunun yani peptidil transferaz reaksiyonunun gerçekleştiğinin gösterilmesi ile 1992 yılında bulunmuştur. Bu veri r-proteinlerin büyük ölçüde yapısal rol oynadığına işaret etmektedir. X ışını kristalografisi ile ribozom görüntüsünde peptidil transferaz reaksiyonunun olduğu bölgede r-proteinlerin yokluğu gösterilmiştir. Ayrıca RNaz uygulaması ile peptid bağı oluşmaması bu oluşumun RNA ile katalizlenen bir reaksiyon olduğunu desteklemektedir.

**Ribozom biyogenezi:** Ökaryotik hücrelerde ribozomların oluşumu ~50 dakika sürmektedir. Ökaryotik ribozomların biyogenezi esas olarak nukleolusta gerçekleşir fakat çeşitli hücre bölümleri bu süreçte rol oynar. Nukleolus bir membran ile çevrili olmayıp özel kromozomlarla ilişkilidir. Nukleolus yapısındaki **nukleolus organizatör bölge** adı verilen kısımda rRNA'ları şifreleyen özel gen bölgeleri yer alır. Ribozom oluşumu, nukleolus organizatör bölgede öncü 45S r-RNA sentezi ile başlar. Takiben gelişen metilasyon ve kesilmeler ile 28S, 5.8S ve 18S r-RNA molekülleri oluşur. Prokaryotlarda ise öncü olarak 30S rRNA'dan 16S, 5S ve 23S rRNA'lar oluşur. Nukleusta sentezlenen 5S r-RNA nukleolusa geçerek ribozomun büyük alt ünitesine katılır (Şekil 6).

Şekil 6. Ribozom oluşumu



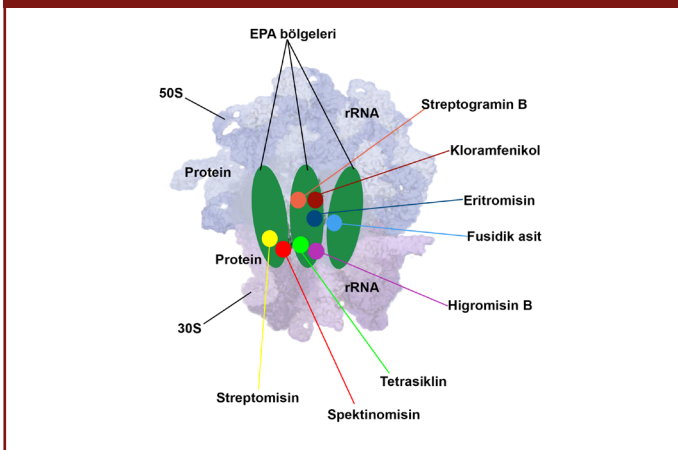
Sitoplazmada serbest ribozomlarda sentezlenen r-proteinleri ve biyosentezi katalizleyen enzimler önce nukleusa oradan nukleolusa geçiş yaparlar. Nukleolusta rRNA'lar ile r-proteinler birleşerek ribozomun fonksiyonel olmayan büyük ve küçük alt ünitelerini oluştururlar. Nukleolusta oluşan ribozom alt üniteleri önce nukleusa oradan da nukleus porları yolu ile sitoplazmaya geçer.

Klinik olarak kullanılan bir antibiyotikğin bakteri enfeksiyonlarında etkili olup insanda toksik etki göstermemesi istenir. Bu nedenle kullanılan **antibiyotikler** örneğin; *penisilin* insan hücrelerinde bulunmayan bakteri duvarındaki protein sentezinin inhibisyonunu sağlar. Kloramfenikol bakteri ribozomlarına ket vurur fakat ökaryotik ribozomları etkilemez. *Kloramfenikol* grubu antibiyotikler ribozomun 50S biriminde bulunan peptidil transferaz aktivitesini engeller ve bu özellikleriyle bakteriyel hastalıkların tedavisinde kullanılırlar. Ökaryotik ribozomlar ise örneğin, *sikloheksimid* tarafından engellenir. Sikloheksimid, ribozomun 60S alt biriminde bulunan peptidil transferaz aktivitesini önler. Bakteri ribozomuna antibiyotiklerin bağlanma yerleri genellikle rRNA moleküllerindeki oyuklardır. *Streptomisin* aminoglikozid sınıfı bir antibiyotiktir ve ilk kodon-antikodon eşleşmesinde yanlış okumaya neden olarak translasyonda hata hızını artırır. *Spektinomisin* 30S alt ünitesine bağlanır ve translokasyonu yani bir kodonluk kaymayı önler. Makrolid antibiyotiklerden *eritromisin* translokasyonu engeller. *Fusidik asit* ökaryotlarda eEF, prokaryotlarda EF-G gibi uzama faktörlerinin translokasyonu tamamlamalarından sonra ribozomdan ayrılmasını önler. *Higromisin B* küçük alt üniteye bağlanarak translasyon hatalarını artırır. *Tetrasiklin* amino asil tRNA'lara bağlanmayı engeller. *Streptogramin B* büyük alt üniteye peptid uzamasını durdurur (Şekil 7).

**Ribozomlarda protein sentezi (translasyon)** üç evreye ayrılır. **1-Başlama evresi**, protein sentezlenmesinde mRNA'nın başla-

ma faktörü (IF) adı verilen proteinler (ökaryotlarda ~12 protein) yardımıyla ribozom küçük alt birimine bağlanmasıdır. mRNA'nın 5' ve 3' uçlarında *proteine çevrilmeyen bölge* bulunur. Ökaryotik mRNA'ların proteine çevrilmeyen bölgesinde yer alan ve translasyonu başlatan *ribozom bağlantı dizilerine*, ribozom 40S alt ünitesi ve IF'ler bağlanır. Metiyonin amino asidi için tek bir AUG başlama kodonu vardır. mRNA ribozom kompleksine, uygun amino asidi taşıyan tRNA'lar yani amino asil tRNA'lar gelerek bağlanır. Hücreler 20 farklı amino asit için ~40 farklı tRNA içerir. Ribozoma bağlanacak ilk başlatıcı tRNA prokaryotlarda *N-formil metiyonin* şeklinde iken ökaryotlarda formillenmemiş *metiyonin*'dir. Başlama faktörleri metiyonin veya N-formil metiyonini GTP varlığında ribozomun P bölgesine bağlar. Prokaryotik mRNA'nın 5' ucu başlama kodonundan önce yer alan *Shine-Dalgarno dizisi* 16S rRNA'nın 3' ucuna yakın tamamlayıcı dizi ile eşleşince translasyon başlama sinyali gerçekleşir. Oysa ökaryot 40S ribozom küçük alt birimi, mRNA m<sup>7</sup>G kepi ile bağlanır ve AUG başlama kodonuyla karşılaşana kadar mRNA boyunca ilerler. 60S büyük alt birim eklenmesi ile fonksiyonel bir ribozom oluşur. Ribozom başlangıç bölgesinden bir kodonluk ilerlediğinde diğer ribozom mRNA'ya bağlanabilir ve böylece polipeptit sentezi ilerler. **2-Uzama evresi**, uzama faktörleri (EF) ve GTP varlığında ikinci amino asil tRNA, ribozomun A yerine bağlanır. P yerindeki ilk amino asit, A yerindeki amino asil tRNA'ya geçer. Birinci ve ikinci amino asitler arasında *peptidil transferaz* varlığında *peptit bağı* oluşur. Ribozom mRNA boyunca 3' yönünde bir kodon hareket eder. mRNA'lar genellikle ~100-200 nükleotit aralıklarla yerleşmiş bir dizi ribozom tarafından okunur. Bu şekilde tekrarlayan aşamalarla polipeptit zincirinin boyu uzar. **3-Sonlanma evresi**, 64 kodondan UAG, UAA, UGA sonlanma kodonları için antikodonu taşıyan tRNA yoktur. Ribozom bu kodonlardan birine gelince sentez durur. *Bu çıkarma faktörleri (RF) ve GTP varlığında olur (Şekil 8).*

Şekil 7. Antibiyotiklerin ribozoma bağlanması

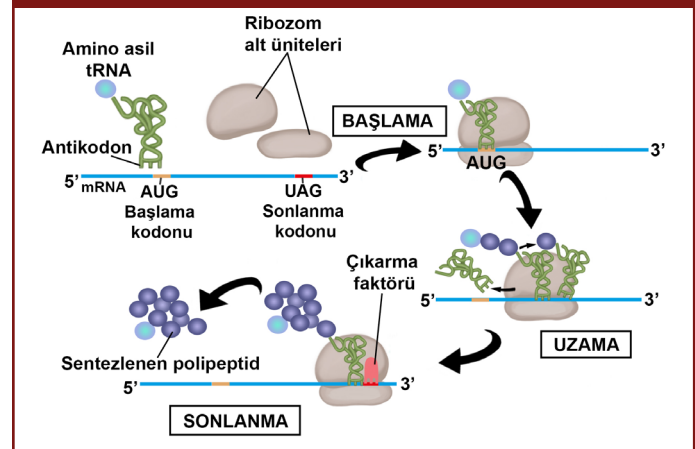


Ökaryot ve prokaryot protein sentezi benzer olsa da hem ribozom yapısı hem de mRNA yapısı açısından farklılıklar vardır. Ökaryot hücrelerin mRNA'sında sadece bir polipeptit zinciri için bilgi vardır. Prokaryot mRNA'sı birden fazla polipeptite ait bilgi taşır. Belli bir özellik için DNA'da bulunan gene **sistron** denir. Birden fazla mesajın bir mRNA üzerinde bulunmasına *polisistronik mesaj* adı verilir. Bakterilerde DNA'dan mRNA'ya çevrilme işlemi bitmeden mRNA ipliği üzerinde protein sentezi başlar. Prokaryot mRNA'ları başlama bölgesinden bağımsız birçok protein kodlar.

**5-Translasyon sonrası işlemler**, ökaryot hücrelerde nükleusda

mRNA'nın çevrilmesi ile sitoplazmada protein oluşumu arasında bazı işlemler vardır. mRNA'ların translasyonu, kodlamayan miRNA'lar ve baskılayıcı (repressor) proteinler yanı sıra hücresel stres, büyüme faktörü gibi uyarılara cevap olarak da düzenlenir. Baskılayıcı proteinler 5' veya 3' proteine çevrilmeyen bölge dizilerine bağlanarak translasyonu durdururlar. Sitoplazmik poli A kuyruğunun uzaması ve buraya bağlanan proteinler ile translasyonun düzenlenmesi yapılır. Örneğin; oositlerde kısa (30-50 nükleotit) poli A kuyruğu bulunan mRNA'lar translasyonu yapılmadan belli bölgelerde depolanır fakat gelişimin farklı evrelerinde bu mRNA'ların poli A kuyrukları normal boyuta (~200 nükleotit) uzayınca translasyonları yapılır. Çeşitli hücrelerde mRNA'nın yerleşimi de translasyonun düzenlenmesini etkiler. Memelilerde translasyon sonrası sinyal dizisi içeren proteinler kanal proteini olan Sec61 ve şaperon proteinler yardımı ile ER lümenine geçer. 1998'de keşfedilen **RNA interferans (RNAi)** mekanizması ile genin susturulmasında kısa çift zincirli RNA molekülü ile mRNA'nın proteine translasyonu engellenir. Çift zincirli RNA molekülleri Dicer enzimi ile kısa interferans RNA (siRNA)'lara kesilir ve RNA ile uyarılan sessizleştirme kompleksi (RISC)-siRNA ile mRNA kesilmeleri artar. Gen ekspresyonun kontrolünde iş gören miRNA'lar ve siRNA'lar mRNA'nın translasyonunu durdurur ve mRNA yıkımlarına neden olurlar.<sup>2-12</sup>

Şekil 8. Translasyon üç evrede tamamlanır



## Proteomik

Proteomik, hücre veya organizmada bulunan tüm proteinlerin yapıları, yapısal değişimleri, miktarları, yerleşimleri, fonksiyonları ve birbirleri ile olan bağlantısalılıklarını araştırır. Protein ekspresyon çalışmaları çok sayıda proteine ait bu soruların cevabını bulmaya yardımcı olur. Proteomik analiz sağlıklı ve hasta hücrelerde, proteinlerin ve bunların bağlantılı oldukları düzenleyicilerin ekspresyon seviyelerini karşılaştırmayı sağlar. İnsan kültür hücrelerinde nükleolusların proteomik analizi 400'den fazla farklı polipeptitin ~%30'unun tanımlanmamış olduğunu göstermiştir. *Saccharomyces cerevisiae* (tomurcuklanan maya) proteomunda saptanan 5858 protein ile mayanın hücresel protein içeriğinin %97'si hesaplanmıştır. Proteomik ile birlikte biyoinformatik değerlendirmeler bu yeni proteinlerin fonksiyonlarının tanımlanmasını kolaylaştırır.

İki boyutlu jel elektroforezi ile az sayıda protein ayırılırken tamponda çözünmeyen hidrofobik yapıda olan membran proteinleri tayin edilemez. Proteomik teknolojilerindeki gelişmeler örneğin; kütle spektrometresi (MS) ile proteomik analiz kolaylaşmıştır.

Kompleks biyolojik yapılarıdaki proteinleri tespit etmek için günümüzde sıvı kromatografi-MS kullanılmaktadır. Proteomiklerin özel bir uygulama örneği olan fosfoproteomik, tüm proteinlerin fosforilasyon durumlarını eşzamanlı belirleyerek fosforilasyon seviyeleri ile proteinlerin hücre metabolizmasındaki rolünün tanımlanmasına olanak sağlar. Son zamanlarda proteomik yaklaşımlar organellerin tüm protein bileşenlerini tanımlamak için kullanılmaktadır. Organellerin protein içerikleri MS veya büyük ölçekli immünofloresan ile analiz edilebilir. Örneğin, 12.003 insan proteininin hücre içi dağılımını saptamak için ~14.000 antikoron kullanıldığı immünofloresan inceleme yöntemiyle 30 hücre içi yapının ve 13 organelin proteomları tespit edilmiştir. Antikor mikrodizinin kullanımı yüksek hassasiyetli MS ile karşılaştırıldığında küçük miktarda örnek ile 24 saatten daha az sürede sonuç vermesi nedeniyle tercih edilebilir.<sup>13-16</sup>

#### Klinik Önemi

CRISPR / Cas ile ilk klinik tedavi akciğer kanseri hastalarına uygulandı.

İntronların kesilip çıkarılmasındaki anormallikler ile ilgili insanda 200'den fazla hastalık tanımlanmıştır. Örneğin; Limb-girdle kas distrofi 1B, Hutchinson-Gilford progeria sendromu.

Bakteri enfeksiyonlarında kullanılan antibiyotikler örneğin, penisilin insan hücrelerinde bulunmayan bakteri duvarına özgü protein sentezini durdurur.

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Declaration of Interests:** The author declares that she has no competing interest.

#### Kaynaklar

1. Ulutin T, Deviren A, Eds. *Temel Genetik* 2. bs. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul; 2016, 19-25.
2. Yusupova G, Yusupov M. Ribosome Biochemistry in Crystal Structure Determination. *RNA*. 2015;21(4): 771-3. [\[Crossref\]](#)
3. Zhou D, Steitz TA, Polikanov YS, Gagnon MG. Ribosome-Targeting Antibiotics: Modes of Action, Mechanisms of Resistance, and Implications for Drug Design. *Annu Rev Biochem*. 2018;87(1): 451-78. [\[Crossref\]](#)
4. Weaver RF. *Molecular Biology*. 5<sup>th</sup> Ed. New York, The McGraw-Hill Companies, 2012.
5. Watson JD, Baker TA, Bell SP, et al. *Molecular Biology of the Gene*. 7<sup>th</sup> Ed. New York, Cold Spring Harbor, 2014.
6. Kachaev ZM, Ivashchenko SD, Kozlov EN, Lebedeva LA, Shidlovskii YV. Localization and Functional Roles of Components of the Translation Apparatus in the Eukaryotic Cell Nucleus. *Cells*. 2021; 19;10(11):3239. [\[Crossref\]](#)
7. Zhao J, Qin B, Nikolay R, Spahn CMT, Zhang G. Translatomics: The Global View of Translation. *Int J Mol Sci*. 2019; 8;20(1):212. [\[Crossref\]](#)
8. Brown TA. *Genomes*. 3<sup>rd</sup> Ed. New York, Garland Science Publishing, 2007.
9. Cox MM, Doudna JA, O'Donnell M. *Molecular Biology Principles and Practice*. 2<sup>nd</sup> Ed. USA, W.H. Freeman and Company, 2015.
10. Da Poian AT, Castanho MARB. *Integrative Human Biochemistry, A Textbook for Medical Biochemistry*. Springer, New York, 2015. [\[Crossref\]](#)
11. Susor A, Kubelka M. Translational Regulation in the Mammalian Oocyte. *Results Probl Cell Differ*. 2017;63: 257-95. [\[Crossref\]](#)
12. Scotti MM, Swanson MS. RNA Mis-splicing in Disease. *Nat Rev Genet*. 2016;17(1):19-32. [\[Crossref\]](#)
13. von Stechow L, Olsen JV. Proteomics Insights into DNA Damage Response and Translating This Knowledge to Clinical Strategies. *Proteomics*. 2017;17(3-4):1600018. [\[Crossref\]](#)
14. Alberts B, Heald R, Johnson A, et al. *Molecular Biology of the Cell*. 7<sup>th</sup> Ed. New York: W. W. Norton & Company, 2022.
15. Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach*. 8<sup>th</sup> Ed. New York, Sinauer Associates, 2019.
16. Chavez JD, Weisbrod CR, Zheng C, Eng JK, Bruce JE. Protein Interactions, Post-Translational Modifications and Topologies in Human Cells. *Mol Cell Proteomics*. 2013;12(5):1451-67. [\[Crossref\]](#)

# **BÖLÜM 7**

## **ORGANELLER**

## Organelles

### Organelles

#### BÖLÜM HAKKINDA

Endoplazmik retikulum lipid ve protein biyosentez yeri ve hücre içi  $Ca^{2+}$  deposudur. Sinyal dizileri sentezlenen proteinin hedefine yönelmesini sağlar. Sinyal dizisi yokluğunda proteinler sitozolde kalırlar. Golgi kompleksi ER'dan gelen proteinlerin endozom, lizozom, plazma membranı veya hücre dışına verilmek üzere işlendiği organeldir. Lizozom enzimlerindeki mutasyonlar ile, lizozomal içeriğin biriktiği yetmişten fazla lizozomal depo hastalığı tanımlanmıştır. Hatalı sentezlenen, katlanan veya yarılanma ömrü biten proteinlerin sindirildikleri kompleks yapı proteazomdur. Mitokondri hücre için gerekli enerjinin ~%95'nin üretildiği merkezlerdir. mtDNA, intron içermez ve maternal kalıtım gösterir. Solunum zincirinde iki kimyasal olay aynı anda gerçekleşir. Birincisi elektron taşıma zinciri diğeri oksidatif fosforilasyondur. Peroksizomlarda enzimler aracılığıyla oksidatif reaksiyonlar sonucu çeşitli substratlar yıkılır. Katalaz peroksizomda üretilen toksik hidrojen peroksiti parçalayan enzimdir. Sentryoller hücre bölünmesinde iğipliklerinin oluşmasında görevlidirler.

**Anahtar kelimeler:** Endoplazmik retikulum, Golgi kompleksi, lizozom, mitokondri, peroksizom

#### ABOUT the CHAPTER

The endoplasmic reticulum is the site of lipid and protein biosynthesis and an intracellular  $Ca^{2+}$  store. Signal sequences direct the synthesized protein to its target. In the absence of the signal sequence, the proteins remain in the cytosol. The Golgi complex is the organelle where the proteins from the ER are processed for endosome, lysosome, plasma membrane or the cell exterior via secretory vesicles. More than seventy lysosomal storage diseases have been described in which lysosomal contents accumulate with mutations in lysosomal enzymes. The proteasome is a complex structure in which proteins that are synthesized incorrectly, misfolded or have expired half-life are digested. Mitochondria are centers where ~95% of the energy required for the cell is generated. mtDNA does not contain introns and is maternally inherited. Two chemical processes co-occur in the respiratory chain. The first is the electron transport chain and the other is oxidative phosphorylation. Various substrates are broken down by enzymes in peroxisomes as a result of oxidative reactions. Catalase is the enzyme that breaks down the toxic hydrogen peroxide produced in the peroxisome. Centrioles are responsible for the formation of spindle fibers in cell division.

**Keywords:** Endoplasmic reticulum, Golgi complex, lysosome, mitochondrion, peroxisome



## Endoplazmik Retikulum

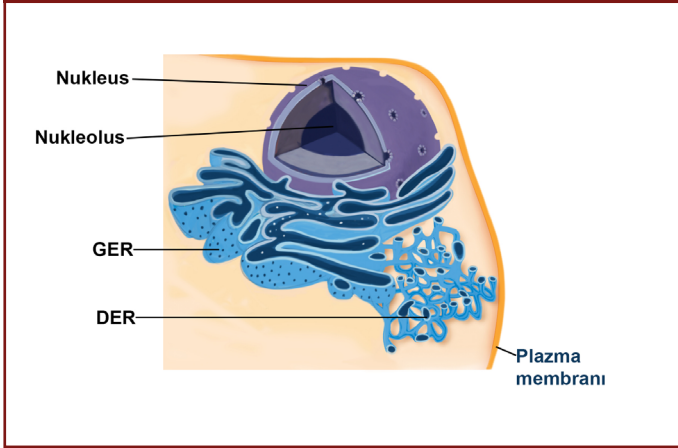
Bütün ökaryotik hücrelerde bulunan endoplazmik retikulum (ER) Latince *endoplasm* sitoplazma içi, *reticulum* ağ anlamındadır. ER nükleus ile devamlılık gösteren kıvrımlı bir-biri ile bağlantılı **kanallar (sisternalar)**, **tübüller** ve **veziküllerden** oluşur. Dış yüzey yani sitozole bakan membran yüzeyinde ribozomları taşıyan endoplazmik retikuluma granüllü endoplazmik retikulum (**GER**), ribozom içermeyene ise düz yüzlü endoplazmik retikulum (**DER**) adı verilir. Elektron mikroskop incelemelerinde GER ribozom içeriği ve uzun yassı kanalları ile DER ise daha çok tübüller içermesi ile ayırt edilir. GER'da esas olarak protein sentez işlemleri gerçekleşirken, kalsiyum deposu olan DER'de ise steroid sentezi, karbohidrat metabolizması ve ilaç detoksifikasyonu gerçekleşir (Şekil 1). Protein ve lipitler ER'dan tomurcuklanan veziküller içinde Golgi kompleksine taşınır.

**DER** protein olmayan moleküllerin işlenmesi veya saklanması rol oynar. DER lümeni, membranda bulunan kalsiyum pompaları sayesinde hücrelerin ana  **$Ca^{2+}$  depolama**



CC BY 4.0: Telif hakkı yazarlardadır. Bu kitabın içeriği Creative Commons Atif 4.0 Uluslararası lisans altında lisanslanmıştır.

**Şekil 1.** Düz yüztlü endoplazmik retikulum (DER) ve granüllü ER (GER)'un üç boyutlu görünüşleri



yeridir. DER kalsiyum alınımlı ve salınımlı üzerinden *kas kasılması*nın kontrolünü sağlar. Karaciğer hücrelerinde depolanan *glükofen*, DER membranlarına bağılı bulunan *glukoz-6-fosfat* enzimi ile glukoz ve inorganik fosfata parçalanır. Böylece DER *kandaki şeker seviyesinin kontrolünde* iş görür. DER yağda çözünen maddelerin ve lipit metabolizmasının aktif olduğu hücrelerde bol olarak bulunur. DER, mitokondri ve peroksizom membran lipitlerinin sentezini sağlar. DER'den zengin hücrelere örnek; steroid hormon sentezleyen testis ve ovaryum hücreleridir. DER tübülleri, hepatositlerin ilaç metabolizmasında ve endokrin hücrelerin *steroid hormon sentezinde* rol oynar. DER'de bulunan **sitokrom P450 (CYP) enzimleri** yağda çözünen ilaçları, endojen steroidleri, kanserojen bileşikleri, ksenobiyotikleri bir elektron transfer işlemi ( $RH + NAD(P)H + H^+ + O_2 \rightarrow ROH + NAD(P)^+ + H_2O$ ) sonucu substratın (R) hidroksillenmesi ile suda çözünlürlüğünü artırarak *toksinlerden arındırır*. Sitokrom P450 gen aktivitesi farklı olan hastalarda ilaçların yan etkileri farklı olabilir. *Farmakogenomik*, DER veya mitokondri iç membranında yer alan sitokrom P450 genlerindeki kalıtsal farklılıklar sonucu bireylerin ilaç cevaplarındaki değişimleri araştırır.

### DER Lipid Sentezi

Ökaryotik hücre membranlarının temel lipit içeriği olan **fosfolipitlerin** çoğu DER membranının sitozole bakan tarafında sentezlenir. Koenzim A taşıyan yağ asitleri membrana bağılı enzimler tarafından gliserol-3-fosfata taşınır ve fosfolipit (fosfatidik asit) membran içine eklenir. Daha sonra bir fosfatase fosfatidik asidi **diacilgliserole** dönüştürür, bu da farklı polar baş grubunun eklenmesi ile fosfatidilkoline, fosfatidilserine, fosfatidiletanolamine ve fosfatidilinositole dönüşür. Yeni sentezlenen fosfolipitler ER çift lipit tabakasının lümen tarafına flippazlar ile geçerler. Ayrıca ER'de **kolesterol** ve **seramid** sentezi yapılır. Kolesterol biyosentezi için karaciğer hücreleri DER'unda bol miktarda hidroksimetilglutaril koenzimA (HMG KoA) redüktaz bulunur. *Statinler* olarak bilinen kolesterol düşürücü ilaçların hedefi HMG KoA redüktaz inhibisyonudur.

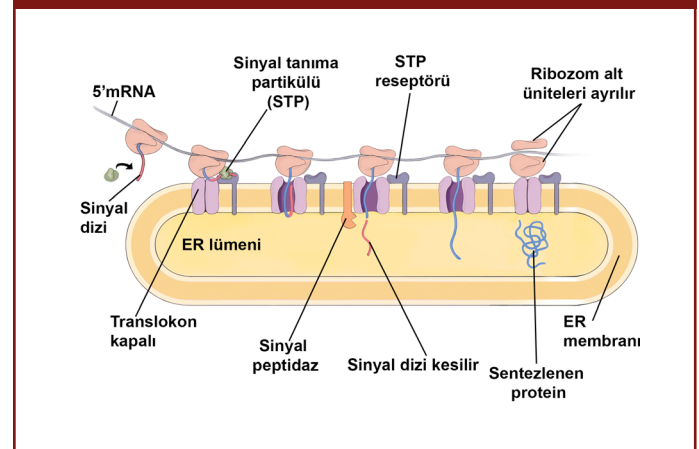
**GER** organeli plazma membranı, Golgi kompleksi, endozom ve lizozom protein sentezlerinin yapıldığı yerdir. Protein ve lipitler ER'den tomurcuklanan veziküller ile Golgi kompleksine oradan endozomlara, lizozomlara veya plazma membranına geçerler. ER, özel **sinial dizisini** tanıyıp bağlayan reseptör proteinleri taşır. Or-

ganele özgü proteinin sitoplazmadan tek yönlü özel kanallar ile membranları geçişi ATP veya GTP hidrolizi ile gerçekleşir. GER içeriğinden zengin hücrelere ekzokrin hücre ve aktif B hücresi örnek verilebilir. ER lümeni yeni sentezlenen proteinlerin katlanması için *enzimler, şaperonlar* içerir. Doğru katlanmayan proteinler Golgi kompleksine yönelmek yerine sitoplazmaya geri döner ve sitozolik proteazom yoluyla parçalanırlar. BİP (Binding Protein) gibi ER'a ait şaperon proteinlerin tekrar ER lümenine dönmesi, karboksil ucunda kısa amino asit içerikleri olan **KDEL** dizisini tanıyan reseptörü ile mümkün olur. ER ile Golgi kompleksi arasında proteinlerin iki yönlü geçişinde yine KDEL reseptörü iş görür.

### Salgı Protein Sentezi

Salgılanacak proteinler olarak plazma membran proteinleri, ER'dan Golgi'ye ve lizozoma gidecek proteinlerin sentezi sitozolde serbest ribozomlarda başlar. Memeli hücrelerinde genellikle ER'a bağılı ribozomlarda sentezlenen proteinler, *translasyon sırasında* GER lümenine taşınır. Mayalarda ise sentez devam ederken veya tamamlandıktan sonra proteinler GER içine taşınırlar. Salgılanacak proteinlerin sentezi için ribozomların ER'u hedeflemesi **sinial hipotezi** ile açıklanmaktadır (Şekil 2).

**Şekil 2.** Sinial hipotezi



Serbest ribozomlarda genellikle N ucu 8-12 hidrofobik amino asit içeren ve ~15-40 amino asit uzunluğunda olan özel bir **sinial dizi**, ribozomun ER membranına tutunmasını sağlar. RNA ve protein kompleksi olan **sinial tanıma partikülü (STP)** sitozolde ribozomdan uzanan sinial dizisini tanıyıp işi bitince tekrar sitozole geri döner. STP, ER membranındaki reseptörüne bağlandığında GTP hidrolizi ile ribozomun bağlantısını kuvvetlendirerek ayrılır. **Translokasyon** (Sec61+STP reseptör+sinyal peptidaz) sitoplazmanın serbest ribozomlarında sentezi başlamış proteinin ER membranından geçişini kolaylaştırır. Serbest ribozomlarda sentezlenen proteinlerin ER lümenine geçmesinde translokasyon olarak kanal oluşturan Sec61 por kompleksi diğer Sec62/63 proteinleri ile birlikte iş görür. Çeşitli kanserlerde farklı Sec gen mutasyonları veya aşırı ekspresyonları kanser teşhisinde Sec proteinlerini moleküler bir biyobelirteç olarak düşündürmektedir. ER lümenine giren polipeptit zincirini sinial dizisi translokasyon ile ilişkili bir protein olan **sinial peptidaz** tarafından kesilir ve parçalanır. Serbest ribozomda STP bağlanması ile sentezi durdurulan polipeptit zinciri ER lümenine translokona bağılı olarak geçer ve polipeptit zinciri uzaması sonlandığında translokasyon kanalı tekrar kapanır ribozom memb-

randan ayrılır. İntegral membran proteinlerinin 20-25 amino asitlik hidrofobik  $\alpha$ -sarmal bölgeleri ER membranında çift fosfolipit tabakayı bir veya daha fazla sayıda boydan boya geçerek membrana yerleşir. Transmembran proteinler translokunun yan tarafından ayrılarak ER lümenine tutunurlar. Nükleus iç membranına gidecek proteinler örneğin, lamin B reseptörü gibi proteinler spesifik diziler ile tanınırlar.

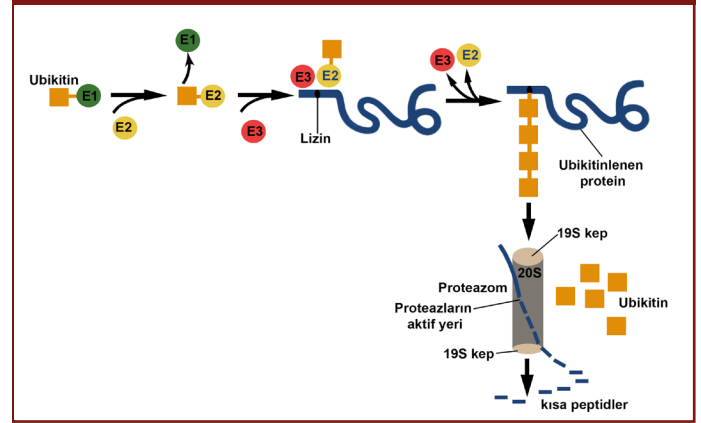
Membran ve salgı proteinleri, ER ve Golgi kompleksinde proteinlere karbohidrat ilavesi ile *glikozilasyon*, ER'da *disülfid bağlarının* oluşumu, polipeptit zincirlerinin uygun şekilde *katlanması* ve ER, Golgi kompleksinde *proteolitik parçalanma* şeklinde dört temel değişiklik içerir. ER'da proteinlerin sentezi tamamlandığında ya ER membranında kalırlar ya da peroksizom membranı veya nükleus membranına katılırlar ya da Golgi kompleksi aracılığı ile endozoma, lizozoma, plazma membranına veya salgı vezikülleri yoluyla hücre dışına taşıyırlar. GER'de protein sentezi devam ederken asparagin kalıntısına oligosakkarit eklenmesi ile **N-bağlı glikozilasyon** sağlanır. ER membranında yer alan glikozilfosfatidilinositol (GPI) protein sentezinin tamamlanmasından hemen sonra C-ucuna eklenir. Bazı proteinler GPI aracılığı ile hücre membranına tutunurlar. İki sistein amino asidinin yan zincirleri arasında yer alan disülfid bağlarının oluşumu ER lümeninde protein disülfid izomeraz enzimi ile gerçekleşir. **Disülfid bağları** çeşitli proteinlerin üç ve dört boyutlu yapılarının kararlılığını artırır. Polipeptit zincirlerinin **üç boyutlu katlanmaları** ER membranından içeri alınırken sinyal dizisinin kesilmesi veya ER lümeninde BİP şaperon proteinleri ile protein alt birimlerinin bir araya getirilmesi ile sağlanır. ER'da glikozilasyon ve GPI protein ana katlanma bölgeleridir. ER membranında bulunan *kalretikulin* ve ER lümeninde bulunan *kalneksin* glikoproteinlerin doğru üç boyutlu katlanmasında rol oynarlar. Proteolitik parçalanma yani proteazlar ile peptit bağlarının parçalanması sonucu bazı proteinlerin lokalizasyon ve aktiviteleri değişir.

Proteinlerin yanlış katlanmasının artması veya hiç katlanmaması sonucu protein birikimleri **ER stresi** olarak adlandırılır. ER stresi nörodejeneratif hastalıklar, metabolik hastalıklar, inflamatuvar hastalıklar ve kanser gibi çeşitli hastalıkların gelişiminde ortaya çıkmaktadır. Yanlış katlanmış proteinde ER yıkımını artıran  $\alpha$ -mannozidaza benzer protein 1 (EDEM1) enzimi oligosakkaritlerden mannozu ayırarak proteinin ubiquitinlenmesine yol açar. ER lümeninde katlanmamış protein birikimi ER membranında stres algılayıcıları olan inozitol gerektiren enzim 1 (*IRE1*), aktif transkripsiyon faktör 6 (*ATF6*) ve protein kinaz RNA (PKR) benzeri ER kinaz (*PERK*) reseptörlerini daha da aktifleştirir ve ER'a girecek protein miktarının geçici olarak azalmasıyla **katlanmamış protein cevabı** oluşur. Katlanmamış protein cevabı ise ER homeostazını yeniden sağlar veya hücrenin apoptoz veya otofaji ile ölümüne neden olur. Glikoprotein doğru şekilde katlanmışsa ER'dan çıkıp Golgi kompleksine doğru hareket eder.

Ökaryot hücrelerin nükleus ve sitoplazmalarında bulunan **proteazom** ATP-bağımlı proteazdır. Polizomlar ve GER'de hatalı sentezlenen, katlanan veya yarılanma ömrü biten proteinler ubiquitin ligaz aracılığı ile sitozole taşınır ve proteazom içinde parçalanırlar. Parçalanacak proteinlere *ubikitin* molekülü eklenir ve ubiquitinlenen proteinler proteazomlara yönelirler. Ubikitin zincirleri proteazom içinde parçalanmak için hedef sinyaller olarak iş görürler. Üç aşamalı bir enzimatik reaksiyon ile proteinler proteazom yola-

ğına girerek parçalanırlar. Küçük bir protein olan ubiquitin sırası ile ubiquitini aktifleştiren enzim (E1), ubiquitin ile birleşen enzim (E2) ve ubiquitin ligaz (E3) aracılığı ile parçalanacak hedef proteinin lizin amino asidine bağlanır. Silindirik kanal şeklindeki proteazoma substratın bağlanması ile ATP hidrolize olur ve kazanılan enerji ile proteinlerin katlanmış yapısı çözülerek kısa peptitlere parçalanır. Maya mikroorganizmalarına ait 26S proteazom her iki ucunda bulunan 19S düzenleyici kep bölgeleri ile proteinlerin parçalandığı 20S merkezi bir silindirik kanal içerir. Kep bölgesinde ubiquitin zincirleri çıkarılır ve merkezi kanal içinde peptit bağları hidrolize olur ve kısa peptitlere dönüşürler. Bu yüzden proteazomlara hücrenin **geri dönüşüm merkezleri** de denebilir. *26S proteazom* hücre döngüsü, DNA replikasyonu, transkripsiyon, sinyal iletimi, apoptoz ve stres cevapları gibi metabolik olayların kontrolünde iş görür (Şekil 3). **Amfizem** ER'da proteinlerin yanlış katlanmasından kaynaklanan bir hastalıktır. Nokta mutasyonu ile hepatosit ve makrofajlardan salgılanan proteaz (özellikle elastaz) inhibitörü  **$\alpha$ 1-antitripsin** yokluğunda, elastazın akciğer yapısında oluşturduğu bozukluk amfizem semptomlarına neden olur.<sup>1-6</sup>

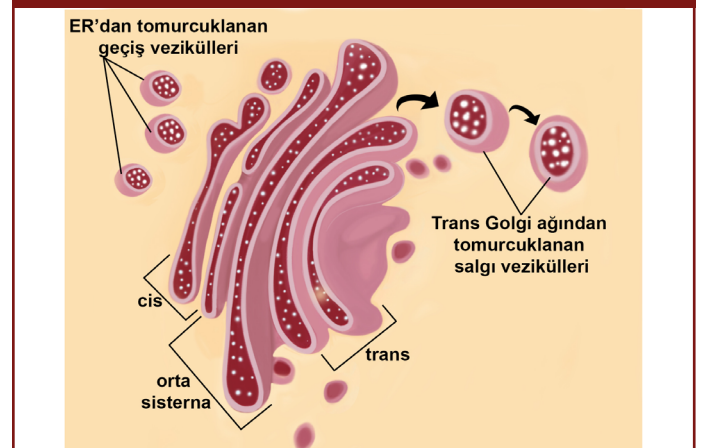
Şekil 3. Ubikitin-proteazom yolu



### Golgi Kompleksi

Bu organel Camillo Golgi'den (1898) adını almıştır. Genellikle nükleusa ve sentrozoma yakın yerleşen Golgi, membran ile çevrili üç ila sekiz **sisterna** ve her iki yüzünde yer alan **tübüller** ve **veziküller** ile birlikte bir kompleks oluşturur (Şekil 4).

Şekil 4. Golgi kompleksi

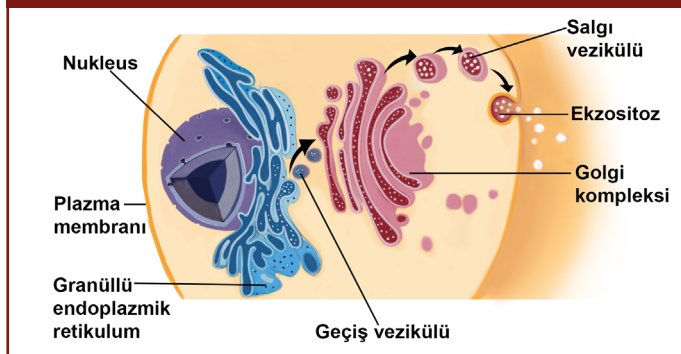




Golgi kompleksi ER'dan gelen proteinlerin daha fazla işlenip endozom, lizozom, plazma membranı veya hücre dışı salgı veziküllerinin hedeflerine gitmek üzere ayrıldığı yapılardır. Golgi kompleksinde **glikoproteinlerin** O- veya N-bağlı oligosakkarit kısımlarının ilaveleri yapılır. O-bağlı glikoproteinlerde oligosakkarit zincirleri serin ve treonin kalıntılarının hidroksil grubunun oksijen atomuna eklenirken, N-bağlı glikoproteinler asparagin amino grubunun nitrojen atomuna eklenir. Tüm ökaryotlarda N-bağlı glikozilasyon yaygındır. Golgi kompleksinde proteoglikan ve müsin oluşumu için O-bağlı glikozilasyon gerçekleşir. Golgi kompleksi lipid ve protein moleküllerini glikozile ederken **glikozil transferaz** enzimlerini kullanır. Golgi kompleksinde seramidden **glikolipitler** ve **sfmngomiyelin** sentez edilir.

Glikoprotein ve glikolipit değişiklikleri önce ER'a yakın olan Golgi'nin *cis* (giris) yüzünden sonra *orta* bölgesinde ve *trans* yani *çıkış* yüzünün devamı olan *trans Golgi ağı* aracılığı ile gerçekleşir. Golgi'nin farklı bölümlerinde **oligosakkaritlerin işlenmesi** gerçekleşir. ER'dan Golgi'ye geçen proteinler plazma membranına, lizozoma veya salgı vezikülü olarak hücre dışına verilir. Lizozoma yönlenecek proteinlerde *cis* Golgi kısmında mannoz kalıntılarının uzaklaştırılması yerine mannoz fosforilasyonu meydana gelir. Daha sonra N-bağlı oligosakkaritlerin üzerinde sadece mannoz-6-fosfat kalır. Bu da *trans* Golgi ağında mannoz-6-fosfat reseptörü tarafından tanınır. ER'dan Golgi'ye geçen glikoproteinlerin N-bağlı oligosakkaritlerinin işlenmesi farklı düzeylerde devam eder. *cis* Golgi sisternalarındaki mannoz kalıntılarını uzaklaştırılır ve N-asetilglukozamin eklenir. N-asetilglukozamin ve galaktoz ilavesi orta sisternalarda, galaktoz, sialik asit ilaveleri ve tirozinlerin, karbohidratların sülfatlanması ise *trans* Golgi kısmında meydana gelir. ER ve Golgi kompleksi arasında membran proteinleri iki yönlü sinyal ile geri kazanılır. *trans* Golgi ağ bölgesinin pH'sı ~6.4 olduğundan olgun olmayan salgı veziküllerinin kümelenmesine neden olur. Salgı vezikülleri spesifik sinyaller ile uyarılana kadar içeriklerini salgılamazlar. Polarite gösteren epitel hücrelerinde salgı vezikülleri di-lösün veya tirozin içeren kısa diziler ile bazolateral bölgeye katılırlar. Apikal bölgeye katılım için kesin olarak bilinen amino asit dizileri olmamakla birlikte GPI veya karbohidrat dizileri iş görebilir. Bazı membran proteinleri Golgi membranında kalabilir. Çoğu proteoglikan ekstraselüler matriks bileşeni olarak Golgi dışına verilir (Şekil 5).

**Şekil 5.** Golgi kompleksinden salgı veziküllerinin ekzositoz ile hücre dışına salınımı



Oligosakkaritlerin varlığı ile glikoproteinler proteolitik enzimler tarafından sindirime karşı direnç kazanırlar. Örneğin, **glikokaliks** tabakası membran proteinlerini proteaz sindiriminden korur. Ayrı-

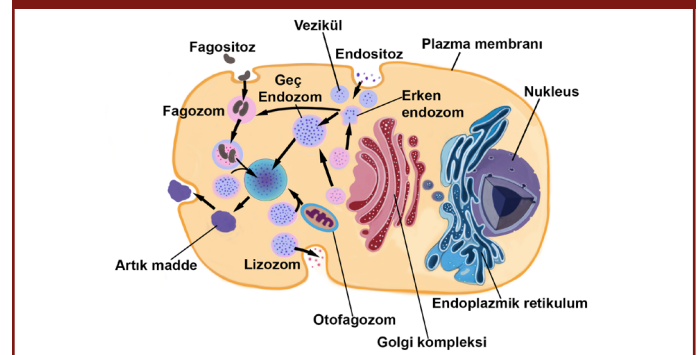
ca akciğer ve bağırsak hücrelerinin mukus tabakası birçok patojene karşı koruyucu rol oynar. Oligosakkaritlerin selektinler ile tanınması hücre-hücre adezyonunda önemlidir. Glikozaminoglikanlara ilave olan şekerler Golgi kompleksinde yüksek oranda sülfatlanır. Bu sülfatlanma sülfat verici 3'-fosfoadenozin-5'-fosfosülfat (PAPS) ile gerçekleşir. **Klatrin** kaplı veziküller, *trans* Golgi ile endozom, lizozom ve hücre membranı arasında her iki yönde de taşıma işlevi görürler. Klatrin kaplı çukurların kapatılması ise bir GTPaz olan dinamain gerektirir. **SNARE** proteinleri hem vezikül hem de hedef membran üzerinde bulunduğundan vezikülün hedef membranla birleşmesinde iş görürler. Ayrıca veziküllerin hedef membran ile birleşmesinde, hedef hücre membranındaki bağlayıcı faktörler ile vezikül membranında yer alan GTP bağlı ~70 farklı **Rab** proteini rol oynar. ER'dan tomurcuklanan veziküllerin Golgi kompleksine taşınmasında veziküller koatomer oluşturan proteinlerden **KOP-II** ile kaplıdır. **KOP-I** kaplı veziküller ise olgunlaşan proteinleri Golgi'den ER'a geri taşırlar. Salgı veziküllerinin üzerindeki Rab proteinlerinin Golgi yüzeyinden dışarı uzanan bağlayıcı faktörlerden **golgin** proteinleri (GM130, GMAP-210, p115) ile etkileşerek vezikülleri Golgi sisternalarına yakın tuttuğu düşünülmektedir.

Bir klor kanalı olan kistik fibrozis transmembran düzenleyici (CFTR) gende çoğunlukla meydana gelen mutasyonlardan biri **kistik fibrozis** (CF) nedenidir. CFTR proteinin ER membranından *cis* Golgi'ye taşınmasında diğer proteinler ile birlikte KOP-II iş görür. CF hastalarının ~%90'ı fenil alanin (F508) delesyonu ile yanlış protein katlanmasına yol açar. F508 mutasyonu sonucu CFTR proteini normal şekilde hücre membranına taşınamaz. CF hastalığında klor ve sodyum iyonu taşınımındaki dengesizliğe bağlı bulgular ortaya çıkar. Bazı etnik gruplarda, F508 delesyonu yoktur veya çok nadir bulunur, bu nedenle kişisel tedavi önemlidir.<sup>7-11</sup>

## Lizozom

Tek bir membranla çevrili lizozomlar ~0.5 µm çapında olmalarına rağmen sindirilen materyale göre farklı büyüklük ve şekillerde olabilir. Bir hücrede ~300 lizozom bulunur. Lizozom, *trans* Golgi ağından kopan asit hidrolazları içeren vezikülün geç endozom ile kaynaşmasıyla oluşur (Şekil 6).

**Şekil 6.** Lizozom oluşumu ve hücre içi sindirimdeki rolleri

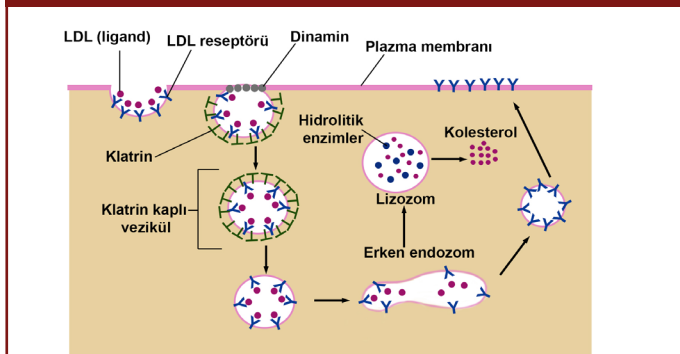


Lizozom membranında bulunan *ATP* bağımlı *H<sup>+</sup>* pompaları sayesinde lizozom içinin asidik kalması sağlanır. Lizozom membranı parçalandığında sitoplazmaya dağılan asit hidrolazlar pH ~7.2 olduğundan etki gösteremezler. Ayrıca lizozomun lümene bakan membran yüzeyi yüksek oranda *glikozillendiğinden*, membran proteinleri lizozomal proteazlardan korunur. Lizozom içerisinde

pH ~5 olup, hücre dışından endositoz ile alınan makromoleküllerin sindiriminin yanı sıra hücrede biriken artık maddelerin de sindirimi bu organelde gerçekleşir. Pinositoz, reseptör aracılı endositoz ve fagositozla hücre içine dışardan alınan yabancı maddeler lizozomlarla kaynaşarak yıkıma uğrarlar. Fagositoz işlemine oluşan fagozom lizozom ile birleşerek sindirimin gerçekleştiği **fa-golizozomu** oluşturur. Lizozom biyogenezinde transkripsiyon faktörü EB lizozomal genlerin ekspresyonunu düzenler ve otofagozom (ER kaynaklı bir membran ile hücresel yapının çevrilmesi) oluşumunda rol oynar. Otofaji ile hücre içeriklerinin yıkımında oluşan otofagozom bir lizozom ile kaynaşarak **otolizozom** oluşturarak hücrenin uzun ömürlü yapıtaşlarının sindiriminde veya dokuların yeniden şekillenmesinde rol oynar.

Santrifüj yöntemi ile keşfedilen lizozom organeli nükleik asitler, karbohidratlar, proteinler ve lipitleri hidrolize eden örneğin; asit fosfataz,  $\beta$ -glukuronidaz, deoksiribonükleaz, ribonükleaz, proteaz, fosfolipaz gibi ~60 kadar enzim içerir. Lizozomal enzim olan hidrolazlar *trans* Golgi ağından lizozoma taşınırlar. *Trans* Golgi'de lizozomal enzimlerin özel olarak seçilmesi için, *cis* Golgi lümeninde N-bağlı oligosakkaritlere mannoz 6-fosfat (M6P) grupları eklenir. *Trans* Golgi'de bulunan M6P reseptörleri hidrolazların klatrin kaplı veziküller halinde paketlenmesine yardımcı olur. *Trans* Golgi'den tomurcuklanan yeni sentezlenmiş hidrolazları taşıyan veziküller klatrin kaplamalarını kaybederek erken endozomlara taşınırlar. Plazma membranından kopan tübüler uzantılara sahip *erken endozomlar* oluşur. Erken endozomlar daha sonra tübüler yapısını kaybedip *geç endozomlar* veya multiveziküler cisimlere dönüşürler. Geç endozomlar lizozom ile birleşir. Geç endozomlarda M6P reseptörüne yeniden bağlanmayı önlemek için lizozomal enzimlerdeki M6P'dan fosfat grubu çıkarılır. Endozomun düşük pH'ı hidrolazları M6P reseptörlerinden ayırır ve boş reseptörler *trans* Golgi'ye dönerler. Lizozom içermeyen maya ve bitki hücrelerinde proteinter, Golgi kompleksinden kısa peptit dizileri ile lizozom gibi işlevlere sahip vakuole yönlendirilir. Düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterolünü (LDL-K) hücre içine almada iş gören LDL reseptörünü etkileyen mutasyonlar ile **hiperkolesterolemi** oluşur (Şekil 7).

Şekil 7. LDL, reseptör aracılı endositoz ile hücreye alınır

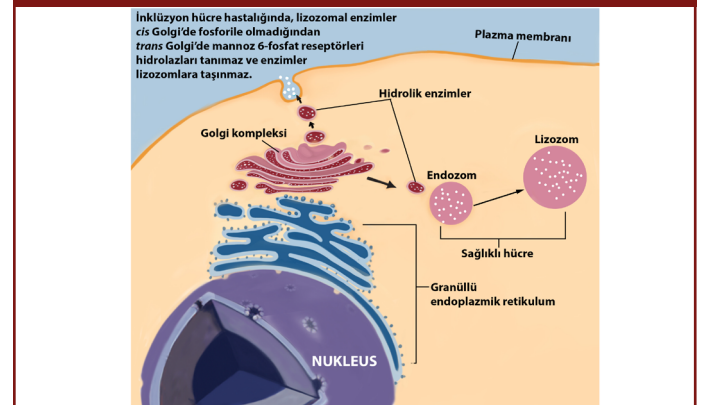


Bağışıklık sistem hücrelerinde *salgı lizozomları* bulunur. Çevresel veya kimyasal değişiklikler salgı lizozomlarının ekzositozunu uyararak içeriklerinin ekstraselüler alana boşaltılmasına neden olur. CD8<sup>+</sup> sitotoksik T hücreleri ve doğal öldürücü hücreler tarafından hedef hücreleri yok etmek için salgı lizozomlarından *perforin* proteini salınır. Salgı lizozomlarına diğer bir örnek osteoklast lizozomları *katepsin K* enzim salınımı ile kemik matrisi geri emilimine katılır.

Lizozom enzimlerindeki mutasyonlar ile oluşan, lizozomal içeriğin biriktiği yetmişden fazla **lizozomal depo hastalığı** tanımlanmıştır. Zekâ geriliği lizozomal depo hastalıklarının ortak özelliğidir. Lizozomal depo hastalıklarının üçte ikisinde nörodejenerasyon görülür. Lizozomal hidrolazlardan bir veya daha fazlasını etkileyen genetik hatalar örneğin, N-asetilglukozamin (GlcNAc) fosfotransferaz bozukluğu lizozomal depo hastalığına neden olur. Lizozomal hastalıklardan en sık görülen **Gaucher hastalığı**nda lizozomal enzim *glukoserebrosidaz* eksikliğinde yıkılamayan glukoserebrozid birikir. Aslında Gaucher hastalığında lizozomal glukoserebrozidaz aktivitesinde azalmaya neden olan lizozomal integral membran protein-2 mutasyonudur. Gaucher hastalığında farklı mutasyonlar hastalığın üç alt tipini oluşturur. Otozomal resesif geçişli tip 2 Gaucher hastalığında dalak ve karaciğerin büyümesi, anemi, zekâ geriliği, nörolojik septomlar gözlenir ve genellikle iki yaş civarında ölümlerle sonuçlanır. Gaucher hastalığına yol açan mutasyonların özelliğine göre hastalığın şiddeti büyük ölçüde tahmin edilebilir, örneğin; prolin yerine lösin değişim mutasyonu sonucu daha şiddetli enzim eksikliği görülen tip 2 veya tip 3 gelişir. Günümüzde Gaucher hastalığının tedavisinde rekombinant DNA teknolojisi ile üretilen enzimin dışarıdan verilme şekli klinik kullanımdadır.

**Tay-Sachs hastalığı**, lizozomal enzim *heksosaminidaz A* eksikliğinde gangliozid olarak adlandırılan bir glikolipitin sinir dokusunda birikimi sonucu ortaya çıkar. Oldukça nadir görülen Tay-Sachs hastalığında ~6 aylık dönemde motor, kas, kardiyak, solunum ve nörolojik bozukluklar gelişir ve genellikle 3 yıl içinde felç, körlük ve ölümlerle sonuçlanır. **Niemann-Pick** hastalığı, *sfinngomiyelinaz* eksikliğine bağlı olarak kolesterol ve sfinngomiyelinin dalak ve merkezi sinir sisteminde birikimine yol açar. Kalıtsal metabolik bozukluk olarak resesif geçişli çok nadir görülen lizozomal depo hastalığı **inklüzyon (I) hücre** hastalığıdır. I-hücre hastalığında M6P oluşumu için gerekli *N-asetilglukozamin fosfotransferaz* enzimi eksiktir. I hücre hastalığında (hepatositler hariç) lizozomal enzimler *cis* Golgi ağında fosforile olmadığından *trans* Golgi'de M6P reseptörleri hidrolazları tanımaz ve enzimler lizozomlara taşınmaz. Çeşitli hücre lizozomlarında hidrolitik enzimlerin neredeyse tamamının eksikliği sindirilmemiş substratların lizozomlarda birikmesine ve lizozomların şişmesine neden olur. Bu durumda bütün organlar ve zihinsel gelişim etkilendiğinden bireyler nadiren yedi yaşından fazla yaşarlar (Şekil 8). En iyi bilinen lizozomal depo hastalıklarından Hurler ve Hunter sendromları glikozaminoglikanların bozulmasından kaynaklanır. Glikozaminoglikanların yıkımı için gerekli olan  *$\alpha$ -L-iduronidaz* enzim bozukluğu olan bireylerde **Hurler sendromu** görülür.<sup>12-18</sup>

Şekil 8. I-hücre hastalığı



## Mitokondri

Mitokondri tüm ökaryotik organizmalarda bulunur, eritrosit ve bakterilerde ise bulunmaz. Mitokondrilerin hücre metabolizmasında oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarındaki rolünü anlamak uzun yıllar almıştır. Hogeboom ve arkadaşları (1948) mitokondrinin solunum merkezi olduğunu göstermişlerdir. Mitokondri bileşiminde %65-70 protein, %25-30 fosfolipit, %2-3 kolesterol, solunum enzimleri, ATP, RNA ve DNA bulunur. Janus yeşili ile vital olarak boyanırlar ve metakromazi gösterirler yani mavi renkte boyanırlar. Bu renk mitokondride bulunan sitokrom oksidaz sisteminin boyanması sonucu ortaya çıkar ve böylece mitokondriler ışık mikroskopunda ayırt edilirler. Mitokondrilerin yaşam süreleri kısadır örneğin, karaciğer hücresinde 10-20 gün yaşarlar. Bakterilerin, mitokondri organelinin evrimsel öncülleri olduğu düşünülmektedir. Mitokondriler prokaryot hücreler ile ortak özellikler gösterirler. Örneğin, prokaryot hücreler ve mitokondri *ribozomları 70S* dir. Bakteri ve mitokondri genomları dairesel yapıda olup histonlar ile birleşmezler.

Mitokondri boyutu 0,5-1  $\mu$  çapında, 1-10  $\mu$  uzunluğunda olmak üzere hücrenin fizyolojik durumuna göre değişir. Mitokondriler oval, yuvarlak, iplik şeklinde görülürler. Aynı hücrenin farklı metabolik safhalarında değişik şekillerde bulunabilirler. Genç embriyo hücrelerinde genellikle yuvarlak, fibroblastlarda uzun iplik şeklinde yapılarıdır. Mitokondrilerin hücredeki sayıları hücre tipine ve fizyolojik durumuna göre değişir. Mitokondrilerin ısı, pH, osmotik ve metabolik değişiklikler ile sayısı değişir. Genellikle birçok hücrede 500-2000 kadar mitokondri bulunur. Kanserli hücrelerin az sayıda mitokondri içermesinin nedeni bu hücrelerde anaerobik glikolizin artmış olmasıdır. Metabolizması yüksek olan hücrelerde mitokondri sayısı fazladır. Örneğin, karaciğer hücresi, kalp kası, gelişmekte olan hücrelerde, ovumda 1500-2500 kadar mitokondri bulunur. Mitokondriler lipit ve karbohidratların oksidatif yıkımından açığa çıkan *metabolik enerjinin üretiminden* sorumludurlar. Mitokondrilerin hücredeki yeri enerji ihtiyacına bağlıdır. Hücrenin enerji üretim merkezi olan mitokondriler enerji ihtiyacı olan yerde sürekli olarak bulunurlar veya enerji gereken yerlere yönelirler. Mitokondriler genel olarak sitoplazmanın her tarafına eşit olarak dağılırlar. Sitoplazmadaki dağılımları bazı hücreler için sabittir. Örneğin, böbrek tübüllerinde bazal hücre yüzünün iç katlanmaları arasında bulunan mitokondriler iyon ve su iletimi için gerekli enerjiyi sağlamakla görevlidirler. Memeli sperm kuyruğundaki mitokondriler kuyruğun hareketi için gerekli enerjiyi sağlarlar. Silyalı hücrelerde ise silya hareketi için gerekli olan enerjiyi temin ederler. Çizgili kas hücrelerinde miyofibrillerin etrafında dizilen mitokondriler kasın kasılması ve gevşemesi için gerekli olan enerjiyi sağlarlar.

Elektron mikroskop ile mitokondri her biri 60 Å kalınlığında birbirine paralel iki membranla çevrili gözüktür. Mitokondri dış ve iç membranlar ile membranlar arası boşluk içerir. Mitokondri iç ve dış membranları yapı ve fonksiyon bakımından farklılık gösterir. Dış mitokondri membranı *porin* proteinleri ile suda çözünen şeker, amino asit, iyonlar gibi moleküllere geçirgen iken iç membran bu moleküllerin geçişini izin vermez. Mitokondri dış membranı içerdiği *porin* kanalları aracılığı ile 5 kd altındaki moleküller için oldukça geçirgendir. Bu nedenle membranlar arası alan içeriği sitozole benzerdir. İç membran pirüvat, yağ asitleri, ADP, ATP ve inorganik fosfat gibi maddelerin geçişini kolaylaştıran taşıma pro-

teinleri (şaperon proteinler ve lipit taşıyan proteinler) içerir. Bu yüzden iç membran yüksek oranda ~ %70 protein, %30 lipit içerir. İç membran lipit içeriğinde bol miktarda bulunan *kardiyolipin* membranda proton akışını sınırlayarak proton gradientinin devamlılığını sağlar. Dış membran düz olarak mitokondriyi çevrelerken iç membran mitokondri matriksi içine doğru parmak şeklinde uzantılar yapar. **Krista** adı verilen bu iç membran uzantıları ile iç membran yüzeyi arttırılır. Krista sayısı ve biçimleri çeşitli hücrelerde farklı olabilir. Genellikle fazla enerjiye ihtiyacı olan hücrelerde fazla sayıda krista içeren mitokondriler bulunur. Mitokondri iç membranında **F<sub>0</sub>F<sub>1</sub> kompleksi** bulunur. Bu kompleks *ATP sentaz* enzimi olup iç membrana F<sub>0</sub> olarak adlandırılan bir sap kısmı ile bağlanır. F<sub>0</sub>'dan proton akışı sırasında F<sub>1</sub>'de oluşan rotasyon hareketi ile ADP'ye fosfat eklenerek **ATP sentezi** gerçekleşir. Mitokondri matriksi Krebs devrine ait enzimler, granüller, çeşitli anyon ve katyonlar, DNA, RNA ve ribozom içerir. Mitokondri içi granüller Ca<sup>2+</sup> ve Mg<sup>2+</sup> gibi katyon konsantrasyonlarını ayarlar. Hücre içindeki katyonların fazlası mitokondriye geçerek granüllerde depolanır ve gerektiğinde sitozole geri salınır. Mitokondri proteinlerinin çoğu sitoplazmada sentezlenir ve mitokondri dış membranı ile iç membranın yer yer birleştiği kısımlardan matrikse geçerler.

*Mitokondri DNA (mtDNA)* dizi analizi 1981 yılında yapıldı. mtDNA'sının % 93'ü kodlanan dizilerden oluşur ve *intron* içermez. Mitokondri organeli DNA, DNA polimeraz ve RNA taşıdığından kendine ait proteinlerin %1'ini kendisi sentezler, geri kalanı nükleus DNA'sı tarafından kodlanır. İnsan mitokondri genomu 16.569 baz çifti içerir bunun 648 bazlık kısmı yakın türlerin birbirinden ayrılmasında kullanılabilir. Mitokondri genomu ağır ve hafif zincirlerden oluşan dairesel yapıdadır. Hafif zincirin kısa segmentinin (7S DNA) tekrarlayan sentezinden üçüncü zincir oluşur. mtDNA'nın ufak bir bölümü üç zincirli DNA yapısındadır. İnsan mitokondri genomu 2 rRNA (16S ve 12S), 22 tRNA, elektron taşınması ve oksidatif fosforilasyon ile ilişkili 13 protein kodlar. Genomdaki D halkası olarak adlandırılan bölge, DNA replikasyon ve transkripsiyon başlatıcı dizilerini içerir. mtDNA'nın organel içinde birçok kopyası (2-12) bulunur. mtDNA ve nükleer DNA arasında genetik kod farklılıkları vardır. Örneğin, UGA sonlanma kodonu insan mitokondri DNA'sı için triptofan amino asidine karşılık gelir. Guanin-sitozin miktarı fazladır. Mitokondrilerde DNA *tamir mekanizması* yoktur. Bu nedenle mutasyon hızı nükleer DNA'dan 10 kat daha fazladır. mtDNA'sı nükleus DNA'sından farklı olarak sadece sentez evresi ile sınırlı olmayıp tüm interfaz süresince iki katına çıkabilir.

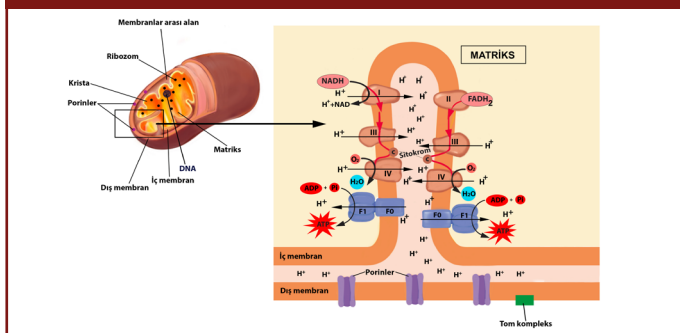
İnsanda mtDNA *maternal (anneye ait) kalıtım* gösterir. Annenin mtDNA'sı çocuklara aktarılırken babanın mtDNA'sı çok nadir olarak aktarılır. Çünkü oosit mitokondri açısından çok zengindir, sperm ise daha az sayıda mitokondri içerir ve bu mitokondriler zigot oluşumuna katılmayan flagellum bölgesinde yer alırlar. Annenin oositine ait mtDNA'sında bulunan mutasyon çocuklara geçer. mtDNA mutasyonlarına bağlı olarak oluşan bazı hastalıklara örnek; Alzheimer, parkinson, bazı sağırlık tipleri, mitokondrial myopati verilebilir. *Kalıtısal erken başlangıçlı Parkinson hastalığına* mitokondri yıkımında iş gören PINK1 (kinaz) ve Parkin (ubikitin ligaz) gen mutasyonları neden olur. Çeşitli nöromusküler bozuklukları olan hastaların hücrelerinde *heteroplazmi* olarak adlandırılan normal ve mutant mtDNA karışımı bulunur. Kalıtısal mitokondri hastalıkları dışıdan çok erkekleri etkiler. Örneğin, sperm hareketliliği için gereken enerjinin çoğu mitokondriden geldiği için erkekte kısırlığa neden olur.

Mitokondriler hücredeki mitokondrilerin bölünmesi ile oluşurlar. İçerdiği DNA sayesinde mitokondriler hücre bölünmesinden bağımsız çoğalırlar. Doku kültürlerinde mitokondrilerin bölündükleri gözlenmiştir. Endoplazmik retikulum tübülü mitokondriyi sararak bölünme yerini belirler ve bölünmeyi başlatır. GTPaz aktivitesine sahip **dinaminler**, GTP hidrolizi ile sağlanan enerjiyi kullanarak mitokondri bölünmesinde rol oynarlar. Mitokondri biyogenezinde mitokondrinin büyümesi, mitokondri membranlarına protein ve lipitlerin eklenmesi ile gerçekleşir. Mitokondrideki başlıca lipit biyosentezi kardiyolipin ve fosfatidiletanolamindir. Mitokondri lipitlerinin çoğu ER'dan sfingolipitler, kolesterol, fosfatidilkolin, fosfatidilinozitol ve fosfatidilserin olarak transfer proteinleri yardımı ile mitokondriye alınır. Lipitlerin mitokondri iç ve dış membranlarına geçişi zarların birbirleri ile temasta olduğu noktalarda gerçekleşir. Mitokondri proteinleri polizomlarda sentezlenip özel sinyal dizileri ile mitokondriye yönlendirilir. İç membran proteinleri Tim kompleks ile, dış membran veya membranlar arası alana gidecek proteinler ise dış membranda bulunan Tom kompleks ile mitokondriye alınır.

Mitokondri **fizyonu** yani bölünmesi çeşitli durumlarda örneğin hücrenin mitoz bölünme ve G<sub>2</sub> evrelerinde özellikle aktiftir. Mitokondrilerin **füzyonu** yani birleşmeleri hücre stresini azaltarak fonksiyonlarını sürdürmesinde önemlidir. Mitokondri füzyon genleride oluşan mutasyonlar mitokondri birleşmelerini bozarak hastalıklara örneğin, Charcot-Marie-Tooth 2A hastalığına sebep olabilir.

Mitokondrinin esas görevi hücrede enerji yaratan oksidasyon ve redüksiyon olaylarına katılmak ve ortaya çıkan yüksek enerjiyi gerektiğinde kolaylıkla serbest hale geçebilen fosfat bağları ile **ATP** halinde depo etmektir. Hücre için gerekli enerjinin %95'i mitokondrilerde üretilir. Mitokondri iç membranını ve kristallerinde elektron taşıma ve oksidatif fosforilasyon olayında görevli enzimler bulunur. Proteinler, yağlar ve karbohidratlar sitoplazmada parçalanırlar. Sitoplazmada geçen glikoliz safhasında glukoz molekülünden iki molekül pirüvik asit oluşur. Bu pirüvik asit ve yağ asitleri mitokondri matriksine geçerler ve oluşan asetil koenzim A sitrik asit döngüsüne katılır. Sitrik asit döngüsüne ait enzimler matriksde bulunur. Asetil koenzim A'nın sitrik asit döngüsü ile CO<sub>2</sub>'e yükseltgenmesine NAD<sup>+</sup> ve FAD'ın sırasıyla NADH ve FADH<sub>2</sub>'e indirgenmesi eşlik eder. Açığa çıkan hidrojenler mitokondri iç membranındaki **solunum enzim kompleksleri**; kompleks I (NADH), kompleks II (süksinat), kompleks III (sitokrom b-c) ve kompleks IV (sitokrom oksidaz)'e iletilirler ve oksijen ile birleşerek H<sub>2</sub>O oluştururlar.

**Şekil 9.** Mitokondrinin üç boyutlu şekli ve büyük büyütmede mitokondri iç membranında yer alan solunum kompleksleri, elektron akış yönü (kırmızı ok).



NADH'dan elektronlar sırası ile kompleks I, III ve IV'e akarken, FADH<sub>2</sub>'den kompleks II, III ve IV'e geçerler (Şekil 9).

Mitokondride atomların ayrılışı sırasında açığa çıkan enerjiler ADP ve inorganik fosfattan ATP yapımında kullanılır. ATP yapımında gerekli olan kompleks V olarak da adlandırılan **ATP sentaz** mitokondri kristallarının matrikse bakan yüzeyinde yer alır. Aerobik reaksiyon 6CO<sub>2</sub>, 6H<sub>2</sub>O ve ~30ATP oluşumu ile sonuçlanır. **Leber'in kalıtsal optik nöropatisi**, mitokondri ATP üretiminde iş gören kompleks I gen mutasyonu ile ortaya çıkar. Bu hastaların kromozomlarının, nukleusu çıkarılan donör yumurtasına transferi sonucu sağlıklı mitokondrilerle değiştirme tedavisi 2016 yılında İngiltere'de onaylanmıştır.

ATP hücrede depo edilen kimyasal enerjidir ve hücrede çok çeşitli işlerde kullanılır. **ATP oluşumu**, mitokondri iç zarı ve zarlar arası alanda gerçekleşen proton gradienti ile meydana geldiğinden **kemiozmotik bağlanma** ile ters yönde gerçekleşir. Mitokondrideki reaksiyonlar birbirine bağlı iki dizi olay ile gerçekleşir. Birincisi Krebs veya **sitrik asit döngüsü**, ikincisi solunum zinciridir. **Solunum zincirinde** iki kimyasal olay aynı anda gerçekleşir. Birincisi **elektron taşıma zinciri** diğeri **oksidatif fosforilasyon (ATP oluşumu)**'dur. Ayrıca mitokondriler önemli işlevlere katılırlar. Yeni doğanın vücut ısısının korunmasında kahverengi yağ dokusunda bol miktarda bulunan mitokondriler önemlidir. Burada mitokondrilerin iç membranda bulunan **termogenin** isimli protein kanalı proton gradienti oluşumuna izin vermez. Bu nedenle oksidatif fosforilasyon ile açığa çıkan enerjiden ATP üretimi yerine ısı oluşumu gerçekleşir. Termogenin miktarı çevre koşullarına göre değişir, örneğin, soğukta yaşayan hayvanların mitokondrilerinde termogenin miktarı fazladır. Mitokondriler steroid hormon üretiminde iş görürler. Mitokondriler birçok küçük molekülün biyosentezinde örneğin, bir kofaktör olan hem sentezinde rol oynarlar. Mitokondri çevreden gelen toksik uyarılara karşı apoptoz yani programlı hücre ölümünde rol oynar. Mitokondri ile ilişkili membranlar olarak adlandırılan ER'un özelleşmiş bölgeleri ER'dan mitokondriye kalsiyum akışında önemlidir. Bu kalsiyum akışı ATP sentezini uyarır fakat fazla olursa hücreyi apoptoza yönlendirir.<sup>12,19-23</sup>

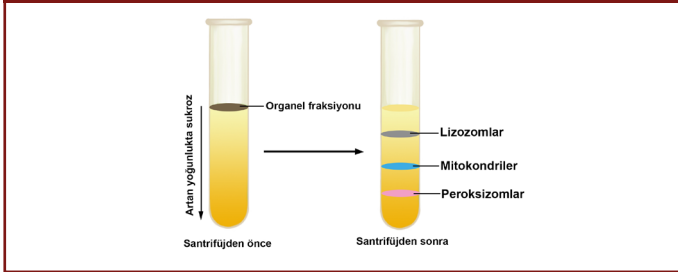
## Peroksisom

Peroksisom, C. de Duve (1974 Nobel ödülü) tarafından keşfedilen **tek bir membran** ile çevrili organeldir. DNA ve ribozom içermez. Çapları yaklaşık 0.2-1 µ olan yuvarlak veya oval şekilli peroksisomların sayıları hücre içinde farklılık gösterir. Çoğu insan hücresi ortalama 500 peroksisom içerir. Peroksisomların ömürleri birkaç gündür. İlkel ökaryot hücrelerinde peroksisomların bütün oksijen metabolizmasını gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Günümüzde peroksisomlar bazı oksidatif reaksiyonları gerçekleştirmektedir. Peroksisomlar yoğunluk gradient santrifüjleme ile diğer organellerden ayrılırlar (Şekil 10). Peroksisom kristal veya kristal olmayan **inklüzyonlar** içerir. Bazı türlerde peroksisomlar yoğun matriks içinde kristal yapıda ürat oksidaz enzimi içerirler.

Peroksisomlar hücre tipine göre değişkenlik gösteren ~50 farklı enzim içerirler. Katalaz, D-amino asit oksidaz ve ürat oksidaz en önemli üç oksidatif enzim olarak sayılabilir ve **katalaz** peroksisom enzimlerinin %40'ını oluşturur. Peroksisomlarda yağ asitlerinin oksidasyonu ile oksijenden hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) oluşur. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonu arttığında hücre için toksik etki oluşturduğundan katalaz enzimi ile su ve oksijene parçalanır. Peroksisomlar deği-

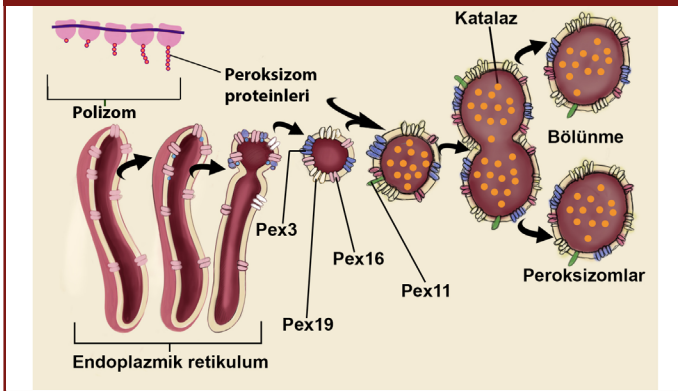
şen koşullara kolayca uyum sağlarlar. Örneğin; şeker üzerinde üreyen maya hücrelerinin peroksisomları daha küçükken, metanolde üreyen hücrelerde metanolü okside etmek amacıyla daha büyük peroksisomlar bulunur.

Şekil 10. Yoğunluk gradient santrifüleme ile peroksisom ayırımı



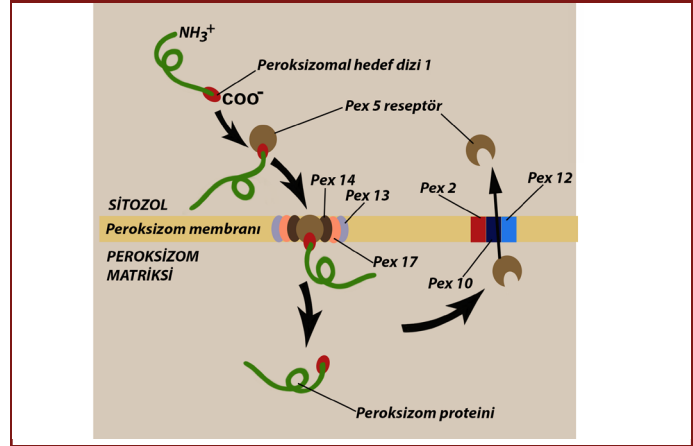
Peroksinler (Pex1, Pex2 gibi 37 farklı protein) sentezlenen proteinleri peroksisom membranına veya matrikse taşıyarak yeni peroksisom oluşumunda iş görürler. Peroksisom proteinleri genelde sitozolde *poliribozomlarda* yapılırlar ancak bazı peroksisomal transmembran proteinleri örneğin, peroksinler *endoplazmik retikulumda* sentez edilip peroksisomlara aktarılır. Daha sonra mevcut veya yeni oluşmuş peroksisomlara katılırlar. Peroksisomların biyogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Yeni peroksisomların endoplazmik retikulumdan tomurcuklanarak ve sonra bölünerek oluştuğu düşünülmektedir. Son deneyler peroksisom oluşumunun Pex3, Pex16 ve Pex19 ile endoplazmik retikulumda başladığını göstermiştir. Oluşmaya başlayan peroksisomlar membran ve matriks proteinleri ile birleşerek büyürler ve daha sonra Pex11 ile ikiye bölünürler (Şekil 11).

Şekil 11. Peroksisom biyogenezi



Peroksisoma ait çeşitli proteinler peroksisomun membranına veya membranı geçerek matrikse yerleşirler. Peroksisomal proteinlerin peroksisomlara yönelmesinde iki dizi rol oynar. Peroksisomal hedef dizi-1 proteininin C uç bölgesindeki üç amino asitlik dizi bir reseptör protein olan Pex 5 ile tanınır. Peroksisomal hedef dizi-2 ise proteinin N uç bölgesinde dokuz amino asitten oluşan diziyi tanıyan Pex 7 reseptörüne bağlanır. Peroksisomal hedef dizi-1 sitozolik reseptör Pex5'e bağlanır sonra membrandaki Pex13, 14 ve 17'den oluşan kompleks reseptör ile birleşir. E3 ubiquitin ligaz aktivitesine sahip Pex2, Pex10 ve Pex12 membran proteinleri aracılığı ile ubiquitinasyonu takiben reseptör sitozole geri döner. Peroksisom matriks proteinini içeride kalır (Şekil 12).

Şekil 12. Peroksisom proteinlerinin sitozolden peroksisom matriksine geçişi



Peroksisomların başlıca fonksiyonları şunlardır: Enzimler aracılığıyla oksidatif reaksiyonlar sonucu çeşitli substratlar yıkılır. Yağ asiti moleküllerinin yıkımıyla ( $\beta$ -oksidasyon) asetil koenzim A oluşur. Memeli hücrelerinde  $\beta$ -oksidasyon hem mitokondri hem de peroksisomlarda gerçekleşir, ancak maya ve bitki hücrelerinde bu reaksiyon sadece peroksisomlarda yapılır. Çok uzun zincirli yağ asitleri ( $> C20$ ) peroksisomlarda asetil koenzim A'ya parçalanır. Çoğu ökaryotik hücrelerde yağ asitlerinin peroksisomlarda oksidasyonu ATP üretimine bağlı değildir, salınan enerji ısıya dönüşür. Mitokondrideki yollar ile 20 karbona kadar olan yağ asitleri yıkılabilir. Peroksisomlar elektron taşıma zinciri içermediğinden yağ asitlerinin oksidasyonu esnasında oluşan  $FADH_2$  den elektronlar *oksidazlar* ile oksijene taşınırlar ve *hidrojen peroksit* oluşur.

Peroksisomlar lipit biyosentezine katılırlar. *Kolesterol* ve *dolikal* endoplazmik retikulumun yanı sıra peroksisomlarda da sentezlenir. Karaciğer peroksisomlarında *safra asitleri* sentezlenir. Peroksisomlar *plazmalojen* sentezi için gerekli çeşitli enzimleri içerirler. Peroksisomlar miyelin kılıfta en fazla bulunan fosfolipit olan plazmalojen oluşumunun ilk basamağını katalizlerler. Plazmalojenlerin sentezindeki son aşama endoplazmik retikulumda gerçekleşir. Plazmalojenler özellikle beyin ve kalp hücrelerinde bulunan bir membran bileşenidir. Plazmalojen yapımında hata olursa nöronlarda miyelin kılıf oluşmadığından nörolojik hastalıklara neden olur.

Peroksisomlar hücreye giren toksik moleküllerin yıkımını yaparak uzaklaştırırlar. Karaciğer hücrelerinde peroksisomların temel görevi toksik etkiyi ortadan kaldırmaktır. Örneğin, içilen alkolün %25'i oksidasyonla asit aldehite dönüştürülür. Kan yoluyla gelen pek çok toksik molekül bu şekilde detoksifiye edilir. Peroksisomların bitkilerde de önemli rolleri vardır. Yapraklarda bulunan peroksisomlar fotosentezde oluşan yan ürünlerin (glükolat gliserata dönüştürülür) oksidasyonunu katalizler. Çimlenen tohumlarda peroksisomlar depolanan yağ asitlerini genç bitkinin büyümesi için gerekli olan karbohidratlara dönüştürürler. Yağların karbohidratlara dönüşümü *gliksilat* çevrimi olarak bilinen bir seri reaksiyonla gerçekleştirildiği için bu peroksisomlara *gliksizomlar* denir.

Peroksisom biyogenez bozuklukları insidansı ~1:50.000 olan resesif genetik hastalıklardan **Zellweger spektrum bozuklukları** ve

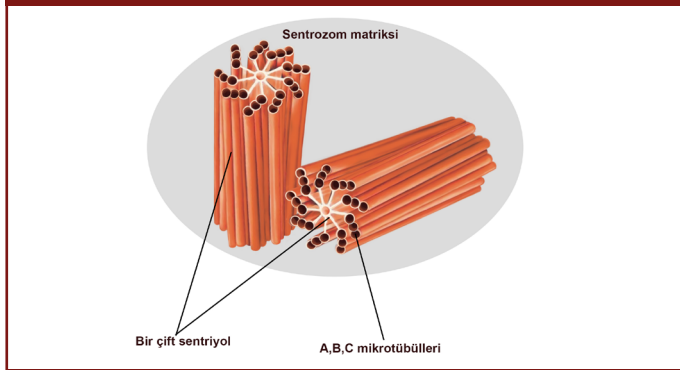
**rizomelik kondrodizplazi punktata tip 1** hastalık nedenidir. Peroksin eksiklikleri çeşitli hastalıklara yol açar. Zellweger sendromunun bir tipinde protein geri alınımında rol oynayan peroksisomal membran proteini olan Pex 2'yi kodlayan gende bir mutasyon oluşur. Zellweger sendromu otozomal resesif geçişli, çok nadir görülen bir hastalıktır. Prenatal tanı mümkündür. Doğumdan sonra bir yıl içinde ölümler sonuçlanır. Zellweger sendromu sitozolden peroksisoma alınacak peroksisomal enzimlerin bozukluğu nedeniyle, böbrek, karaciğer ve beyin hücrelerinde peroksisomların azalması veya yokluğu ile karakterizedir. Peroksisomların metabolik aktivitelerini bozan mutasyonlar ile hastalıklar oluşur. Örneğin, **adrenolökodistrofi** uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunu yapan yağ asit sentetaz enzimini sitozolden peroksisom matriksine nakledecek membran taşıma proteininde mutasyon vardır. X-kromozomal geçiş gösteren nörolojik semptomları olan bir hastalıktır. Zellweger spektrum bozukluklarının en hafif tipi olan **infantil refsum** hastalığı, vücutta peroksisomların azalması veya yokluğu ile karakterize bir hastalıktır. Plazma ve dokularda fitanik asit birikir. Bu hastalık beyinde sinir fibrillerinin ve miyelin kılıfın gelişimini etkiler. Günümüzde peroksisom biyogenez bozuklukları için standart bir tedavi bulunmamaktadır.

## Sentriyol

Sentriyol ilk defa Beneden ve Boveri (1875) tarafından tanımlanmıştır. Sentriyol çoğu hayvan hücrelerinde ve ilkel bitkilerde (örneğin, alg) bir çift olarak bulunur. Fakat yüksek bitkiler ve çoğu mantar sentriyol içermez. Sentriyol 0.2 µm çapında, 0.3-0.5 µm uzunluğundadır. Sentriyoller elektron mikroskopunda duvarları birbirine dikey duran dokuz adet üçlü mikrotübülün oluşturduğu silindirdir şeklinde görülürler (9X3). A mikrotübülü tam olup B ve C bir diğerinin duvarını paylaşır. İnterfaz hücrelerinde sentriyol ışık mikroskobu ile nukleusa yakın duran bir çift granül yani diplozom şeklinde görülür. Sentriyol çifti 90°'lik açı ile birbirine dik olarak bulunur (Şekil 13).

Mikrotübül organize eden merkezler yani **sentrozom**, sentrozom

Şekil 13. Sentrozom yapısı



matriksi (perisentriyoler materyal) içinde yer alan bir çift sentriyolden oluşur. Sentrozom mitoz mekiği oluşumunda *mikrotübülleri organize eden merkezdir*. Ayrıca sentrozom ve silya etrafında mikrotübül ile bağlantılı membransız granüller şeklinde satellitler yer alır. Sentriyolden ışınsal olarak uzanan çok sayıda mikrotübül aster ipliklerini oluşturur. Aster iplikleri interfazda az sayıda iken, hücre bölünme halinde iken uzun ve yoğun iplikler haline dönüşürler ve iğ iplikleri oluşumuna katılırlar. İnterfazda sentrozom

matriksi, mikrotübüllerin sitoplazmada dizilişini sağlar. Bu matriks çeşitli proteinleri örneğin; mikrotübüle bağlı motor proteinleri ve hücre döngüsü kontrol proteinlerini içerir. Bu proteinlerden en önemlisi  $\gamma$ -tübülün halka kompleksi ( $\gamma$ -TURC) esas olarak mikrotübül yapımından sorumludur ve mikrotübülün (-) ucunda 8 veya daha fazla proteinle ilişkilidir. Perisentriyoler materyal içerdiği  $\gamma$ -tübülün halka kompleksi ile mikrotübül uzaması ve bu mikrotübüllerin (-) uçlarının sabitlenmesinde iş görür. Sentriyol A, B, C mikrotübüllerinin oluşumunda  $\alpha$  ve  $\beta$ -tübülün alt üniteleri yanı sıra  $\delta$ - ve  $\epsilon$ -tübülünler iş görürler. Ayrıca sekiz polipeptitten oluşan *augmin kompleksi* mikrotübüllere yandan bağlanarak  $\gamma$ -TURC ile yeni mikrotübül oluşumunda rol oynar. Sentriyol iç yapısı, **bazal cisim** ile benzerdir. Bazal cisim, sentriyolden kökenlenir. Sentriyol, silya içeren epitelde bazal cisim (sentriyol + aksesuar yapılar [kökçük ve bazal ayak]) olarak silya oluşumuna katılır. Sentriyoller silya ve flagellumun tabanında bulunurlar. Sentriyol tek hareketsiz silya, hareketli silya ve kamçı oluşumunda önemli rol oynar. Sentriyoller hücre bölünmesinde iğ ipliklerinin oluşmasında gerekli değildir. Tek hücreli ökaryotlar ve yüksek bitki hücrelerinde sentriyol bulunmadığından onun yerine perisentriyoler materyal iş görür.

Sentriyol duplikasyonu hücre döngüsü tarafından kontrol edilir. Sentriyol iki katına çıkarken G<sub>1</sub> evresinde birbirine dik açı ile duran bir çift sentriyol birbirinden uzaklaşmaya başlar. Sentez (S) evresinde her sentriyolün yanında yavru sentriyol oluşmaya başlar. Sentriyol S evresinde iki katına çıkar. G<sub>2</sub> evresinde sentrozom duplikasyonu tamamlanarak iki çift sentriyol bulunur. Sentrozom duplikasyonu için perisentriyoler materyalde bulunan iki yüzden fazla protein bileşeni iş görür. Polo like kinaz ailesi (Plk4) sentrozom bileşenlerinin fosforilasyonunda rol oynar. İnterfaz evresinde sentrozom çifti hücre nukleusuna yakın yerleşir, mitoz bölünmenin profaz evresinde duplike sentrozomlar iki kutbu oluşturmak üzere birbirinden ayrılır ve mitoz mekiğini oluştururlar. Kanseri hücrelerinde sentrozom sayısı ve şekil anormallikleri görülür. Örneğin, servikal kanser gelişimi insan papilloma virüsü (HPV) ile ilişkilidir. HPV-16 içeren hücrelerde, retinoblastomaya bağlanan E7 onkoproteininin kısıtlama kontrol noktasını bozmasıyla oluşan sentrozom sayısı anormalliklerine sıklıkla rastlanır. Sentrozom bozuklukları iğ ipliği düzensizlikleri ile anormal kromozom sayısına ve göçüne neden olur.<sup>22,24-30</sup>

## Klinik Önemi

Statinler olarak bilinen kolesterol düşürücü ilaçların hedefi DER'da bulunan hidroksimetilglutaril koenzim A redüktaz inhibisyonudur.

Gaucher hastalığında lizozomal glukoserebrosidaz aktivitesinde azalmaya neden olan lizozomal integral membran protein-2 mutasyonudur.

İnklüzyon hücre hastalığında lizozomal enzimler cis Golgi ağında fosforile olmadığından lizozomlara yönlendirilemezler.

mtDNA'daki mutasyonlara bağlı olarak oluşan hastalıklara örnek; Alzheimer, parkinson, bazı sağırılık tipleri, mitokondrial myopati verilebilir.

Zellweger spektrum bozuklukları vücutta peroksisomların azalması veya yokluğu ile karakterizedir.

İnsan papilloma virüsü tip 16, E7 onkoprotein ile oluşan sentrozom sayısı anormalliklerine servikal kanser hücrelerinde sıklıkla rastlanır.

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Declaration of Interests:** The author declares that she has no competing interest.

## Kaynaklar

1. Alberts B, Heald R, Johnson A, et al. *Molecular Biology of the Cell*. 7<sup>th</sup> Ed. New York: W. W. Norton & Company, 2022.
2. Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach*. 8<sup>th</sup> Ed. New York, Sinauer Associates, 2019.
3. Goodman, SR. Ed. *Goodman's Medical Cell Biology*. 4<sup>th</sup> Ed. USA, Elsevier, 2021.
4. Hall CE, Hall ME. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 14<sup>th</sup> Ed. Philadelphia, Elsevier, 2021.
5. Almanza A, Carlesso A, Chintia C, et al. Endoplasmic Reticulum Stres Signalling from Basic Mechanisms to Clinical Applications. *FEBS J*. 2019;286(2): 241-78. [\[Crossref\]](#)
6. Spits M, Heesterbeek IT, Voortman LM, et al. Mobile Late Endosomes Modulate Peripheral Endoplasmic Reticulum Network Architecture. *EMBO Rep*. 2021;3;22(3): e50815. [\[Crossref\]](#)
7. Liu J, Huang Y, Li T, Jiang Z, Zeng L, Hu Z. The Role of the Golgi Apparatus in Disease. *Int J Mol Med*. 2021;47(4):38 [\[Crossref\]](#)
8. Stalder D, Gershlick DC. Direct Trafficking Pathways from the Golgi Apparatus to the Plasma Membrane. *Semin Cell Dev Biol*. 2020;107: 112-25. [\[Crossref\]](#)
9. Alberts B, Hopkin K, Johnson A, et al. *Essential Cell Biology*. 5<sup>th</sup> Ed. New York, W.W. Norton & Company, Inc., 2019.
10. Guo Y, Sirkis DW, Schekman R. Protein Sorting at the trans-Golgi Network. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2014;30: 169-206. [\[Crossref\]](#)
11. Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky PV, Orr RB, Campbell, N.A. *Campbell Biology*. 12<sup>th</sup> Ed. New York, Pearson, 2020.
12. Pollard TD, Earnshaw WC, Lippincott-Schwartz J, Johnson GT. *Cell Biology*. 3<sup>rd</sup> Ed. Philadelphia, Elsevier, 2017.
13. Cohen S, Valm AM, Lippincott-Schwartz J. Interacting Organelles. *Curr Opin Cell Biol*. 2018;53: 84-91. [\[Crossref\]](#)
14. Conrad KS, Cheng TW, Ysselstein D, et al. Lysosomal Integral Membrane Protein-2 as a Phospholipid Receptor Revealed by Biophysical and Cellular Studies. *Nat Commun*. 2017;8: 1908. [\[Crossref\]](#)
15. Marques ARA, Saftig P. Lysosomal Storage Disorders-Challenges, Concepts and Avenues for Therapy: Beyond Rare Diseases. *J Cell Sci*. 2019;132(2): jcs221739. [\[Crossref\]](#)
16. Platt FM, d'Azzo A, Davidson BL, Neufeld EF, Tiffet, CJ. Lysosomal Storage Diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4(1): 27. [\[Crossref\]](#)
17. Sun A. Lysosomal Storage Disease Overview. *Ann Transl Med*. 2018;6(24): 476. [\[Crossref\]](#)
18. Lawrence RE, Zoncu R. The Lysosome as a Cellular Centre for Signalling, Metabolism and Quality Control. *Nat Cell Biol*. 2019;21(2): 133-42. [\[Crossref\]](#)
19. Lodish H, Berk A, Kaiser C, et al. *Molecular Cell Biology*. 9<sup>th</sup> Ed. Macmillan Learning, 2021.
20. Bulthuis EP, Adjobo-Hermans MJ, Willems PHGM, Koopman WJH. Mitochondrial Morphofunction in Mammalian Cells. *Antioxid Redox Signal*. 2019;30(18): 2066-2109. [\[Crossref\]](#)
21. Yan C, Duanmu X, Zeng L, Liu B, Song Z. Mitochondrial DNA: Distribution, Mutations, and Elimination. *Cells*. 2019;8(4): 379. [\[Crossref\]](#)
22. Clark DP, Pazdernik NJ, McGehee MR. *Molecular Biology*. 3<sup>rd</sup> Ed. London, United Kingdom, Academic Press Elsevier, 2019. [\[Crossref\]](#)
23. Sato M, Sato K. Maternal Inheritance of Mitochondrial DNA by Diverse Mechanisms to Eliminate Paternal Mitochondrial DNA. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1833(8): 1979-84. [\[Crossref\]](#)
24. Kobayashi T, Dynlacht BD. Regulating the Transition from Centriole to Basal Body. *J Cell Biol*. 2011;193(3): 435-44. [\[Crossref\]](#)
25. Argyriou C, D'Agostino MD, Braverman N. Peroxisome Biogenesis Disorders. *Transl Sci Rare Dis*. 2016;1(2): 111-44. [\[Crossref\]](#)
26. Schrader M, Kamoshita M, Islinger M. Organelle Interplay-Peroxisome Interactions in Health and Disease. *J Inherit Metab Dis*. 2020;43(1): 71-89. [\[Crossref\]](#)
27. Chandar N, Viselli S. *Lippincott's Illustrated Reviews: Cell and Molecular Biology*. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, 2010.
28. Kierszenbaum AL, Tres LL. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*. 5<sup>th</sup> Ed. USA, Elsevier, 2020.
29. Hardin J, Bertoni G. *Becker's World of the Cell*. 9<sup>th</sup> Ed. England, Pearson Education Limited, 2018.
30. Nigg EA, Holland AJ. Once and Only Once: Mechanisms of Centriole Duplication and Their Deregulation in Disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2018;19(5): 297-312. [\[Crossref\]](#)

# **BÖLÜM 8**

## **HÜCRE ADEZYON MOLEKÜLLERİ**



# Hücre Adezyon Molekülleri

## Cell Adhesion Molecules

### BÖLÜM HAKKINDA

Hücre adezyon molekülleri, iki hücreyi veya hücre ile ekstraselüler matriksi bağlar. Kaderinler epitel ve kas hücrelerinde özellikle adherens bağlantı ve desmozomlarda bağlayıcı özellik gösterirler. Lökositler ve trombositler damar endotel hücreleri ile geçici adezyonlarında  $Ca^{2+}$  bağımlı selektinleri kullanırlar. İmmüoglobulin (Ig) süper ailesi, antikor moleküllerine benzer 2 ila 6 adet katlanmış parça içerir ve hem homofilik hem de heterofilik bağlantı yapar. İntegrinler hücre-matriks adezyonunu sağlarlar. İntegrinler çeşitli hücre fonksiyonlarını kontrol eden iki yönlü sinyal ileti reseptörleridir.

**Anahtar kelimeler:** Kaderin süper ailesi, selektin, immüoglobulin süper ailesi, integrin

### ABOUT the CHAPTER

Cell adhesion molecules attach adjacent cells or cells to the extracellular matrix. The cadherins show binding properties in epithelial and muscle cells, especially in adherens junctions and desmosomes.  $Ca^{2+}$ -dependent selectins mediate leukocytes and platelets in their transient adhesion with vascular endothelial cells. The immunoglobulin (Ig) superfamily contains 2 to 6 folded domains similar to antibody molecules and mediates both homophilic and heterophilic binding. The integrins serve cell-matrix adhesion. Integrins are bidirectional signal-transmitting receptors that control various cell functions.

**Keywords:** Cadherin superfamily, selectin, immunoglobulin superfamily, integrin

Hücre-hücre adezyonunda hücre adezyon molekülleri (HAM) olarak adlandırılan **transmembran proteinler** rol oynar. İki ana sınıf hücre adezyon molekülünden  $Ca^{2+}$  veya  $Mg^{2+}$  bağımlı olan moleküller kaderin süper ailesi ve selektinler iken  $Ca^{2+}$  veya  $Mg^{2+}$ 'dan bağımsız moleküller integrinler ve immüoglobülin (Ig) süper ailesidir. Hücre adezyon molekülleri, hücre-hücre adezyonu veya hücre-matriks adezyonu şeklinde olabilir. Adezyon moleküllerinin sitoplazmik uçları *hücre iskeletine* veya *sinyal yollarına* bağlanmada iş gören adaptör proteinler ile ilişkidir. Adezyon molekülleri hücrenin iç tarafındaki hücre iskeletine (aktin filamenti veya ara filamente) adaptör proteinler ile bağlanarak mekaniksel dayanıklılık sağlar. Çoğu adezyon proteinleri CD (cluster of differentiation) yani farklılaşma kümesi olarak isimlendirilir. Bu isimlendirme monoklonal antikortarla tanımlanan hücre yüzey antijenlerini sınıflandırmak için kullanılır. İntegrin, selektin, müsin (hücre yüzey glikoproteinlerine bağlanan selektinler) ve Ig-HAM ailelerinde adezyon proteinlerinin hepsi kaderinler hariç CD sayılarına sahiptir. Hücre adezyon molekülleri epitel hücreleri yanı sıra diğer bazı hücrelerde örneğin, kalp kası hücrelerinin özelleşmiş bağlantılarında bulunur. Kalp kasında hücre hücre adezyon bölgesi interkalar disklerdir.

Birçok adezyon proteini genellikle bir liganda bağlandığından hücreler sınırlı ligand bağlama aktivitesi ile birbirine tutunurlar. Ligandların adezyon molekülleri ile birleşmesi hücre içi sinyal ileti yollarını aktive edebilir. İntegrinlerin sitoplazmik bölgeleri bu aktivasyona aracı olur. İntegrin aktivasyonu gelişim sırasında hücrel etkileşimleri düzenler. Ekstraselüler uyarılar adezyon reseptörlerinin ekspresyonunu kontrol eder. Örneğin; endotel hücreleri inflamatuvar sitokinler ile uyarıldığı zaman E-Selektin üretirler. Bazı adezyon proteinleri birden fazla liganda bağlanırlar. Örneğin; integrinler birden fazla liganda bağlanabilir.  $\alpha 5\beta 1$  integrin /fibronektine,  $\alpha 6\beta 4$  integrin /laminine,  $\alpha 1\beta 1$  integrin /kollajen I'e veya integrin /Ig-HAM gibi diğer adezyon proteinlerine bağlanır. **Kaderinler** kendi benzerine bağlanarak benzer hücrelerin adezyonunu sağlar. İki hücrede benzer reseptörlerin birleşmesi  $Ca^{2+}$  gerektirir (**homofilik etkileşim**). **Selektinler** müsinler gibi



anyonik polisakkaritleri bağlar. Bu tür etkileşimler iki farklı hücre tipini birbirine bağlar ve  $Ca^{2+}$  gerektirir (**heterofilik etkileşim**). **Ig-hücre adezyon molekülü** aynı veya diğer hücre yüzey adezyon proteinlerini bağlar. Aynı veya farklı hücre tipleri arasında sırasıyla benzer ve benzer olmayan reseptörler birleşir (**homofilik** veya **heterofilik etkileşim**). **İntegrinler** ya bir matriks makromolekülüne ya kandaki çözünebilir bir proteine ya da diğer hücre yüzeyindeki bir adezyon proteinine bağlanabilir (**heterofilik etkileşim**). Hücre yüzey yoğunluğu ve kümeleşme durumu ile adezyon düzenlenir. Yüzey yoğunluğu sadece adezyon moleküllerinin sentez düzeyini yansıtmaz, aynı zamanda hücre içi depolama oranını da yansıtır. Ligandın bağlanma ve ayrılma oranı hücre adezyonunun önemli bir belirleyicisidir. Hücre yüzey adezyon proteinleri olan Ig-HAM, integrin ve selektin ailesinin üyeleri ligandlarına örneğin, DNA etkileşimleri ile karşılaştırıldığında daha zayıf olarak bağlanırlar.

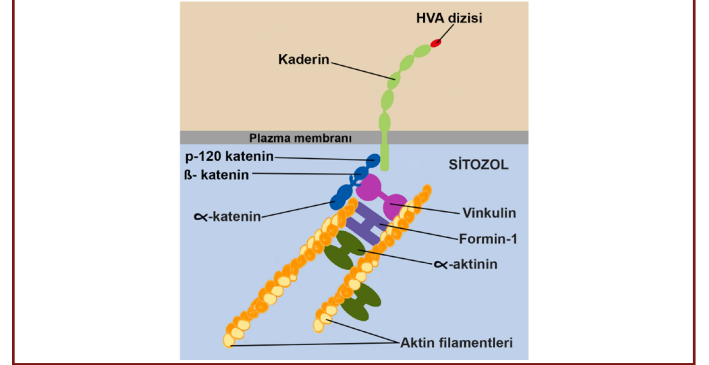
### Kaderin Süper Ailesi

30 türe ait filogenetik analiz sonucuna göre, 350'den fazla çeşidi olan kaderin süper ailesi hücre-hücre adezyonunda  $Ca^{2+}$  veya  $Mg^{2+}$  bağımlı hücre adezyon moleküllerindedir. Kaderinlerin ismi kalsiyum bağımlı olmalarından kaynaklanır. Klasik olmayan kaderinler desmozomal kaderinler gibi adeziv fonksiyonu bilinen proteinleri içerir. Klasik ve klasik olmayan kaderin proteinleri, *kaderin süper ailesini* oluştururlar. Başlangıçta kaderinler esas buldukları doku tipine göre isimlendirilmiştir. E-kaderin çoğu epitel hücrelerinde, N-kaderin merkezi sinir sistemi, çizgili kas, kalp kası ve lens hücrelerinde, P-kaderin plasenta (trofoblast) ve epidermis hücrelerinde bulunur. Fakat hepsi aynı zamanda çeşitli dokularda da bulunur, örneğin, N-kaderin fibroblastlardan salgılanır fakat ilk isimlendirme klasik kaderinler olarak kalmıştır. Kaderinler epitel ve kas hücrelerinde özellikle **adherens bağlantı** ve **desmozomlar**da bağlayıcı özellik gösterirler. Bu **morfogeneze** önemlidir. Kaderinlerin sitoplazmik uçlarının aktin veya ara filamentlerle ilişkileri, dokunun fiziksel bütünlüğünün sürdürülmesinde ve bu bağlantıların kuvvetlenmesinde iş görür. T-kaderinin hücre iskeleti ile bağlantısı yoktur. Bu yüzden hücre hücre adezyonu yapmaz, küçük bir glikozilfosfatidil-inositol (GPI) kuyruğu ile membrana tutunur. Ayrıca kaderinler ekstraselüler matriks ile ilişkili değildirler. Çoğu kaderin transmembran glikoproteindir. Polipeptit zincirinin büyük ekstraselüler kısmı genellikle beş veya daha fazla tekrarlanan kaderin katlanmaları içerir. Kaderinler genellikle homofilik mekanizma ile hücrelere bağlanır. Epitel hücreleri arasındaki E-kaderinlerin homofilik etkileşimi (karşı epiteldeki aynı veya farklı sınıf kaderindir) epitel hücrelerinin seçici adezyonuna neden olur. E-kaderin molekülleri *cis* (lateral) homofilik dimerler oluşturur ve iki hücreyi kalsiyum varlığında karşılıklı bağlarlar.

Kaderinlerin sitoplazmik uçları aktine *katenin kompleks* ( $\alpha$ ,  $\beta$ , p120) ve *aktin bağlayıcı proteinler* ( $\alpha$ -aktinin, vinkulin, formin-1) ile bağlanır. Lateral homofilik kaderin dimerlerinin birleşmesini *histidin-valin-alanin* (HVA) dizisi kolaylaştırır. Kaderinlerin adeziv aktivitesini düzenlemenin moleküler mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, kaderinlerin sitoplazmik ucuna bağlanan adaptör proteinlerin fosforillendiği bilinmektedir. Katenin kompleksi kaderinlerin işlevinde farklı rollere sahiptir. Kaderin-katenin kompleksinin aktinle ilişkisi hücre şeklindeki değişiklikler, hücre polaritesinin oluşumu ve hücre morfogenezi için önemlidir. p120 katenin, kaderinlerin ekstraselüler bölgesinin (domainin) adeziv yapısını kontrol eder.  $\beta$ -katenin ise hücre içi kaderin ucu ile bağ-

lantıda olup aktine bağlanmada aracılık eder.  $\alpha$ -katenin aktin bağlayıcı moleküller ile direkt ilişkiindedir (Şekil 1).

Şekil 1. Kaderin molekülünün aktin filamentlerine bağlanması



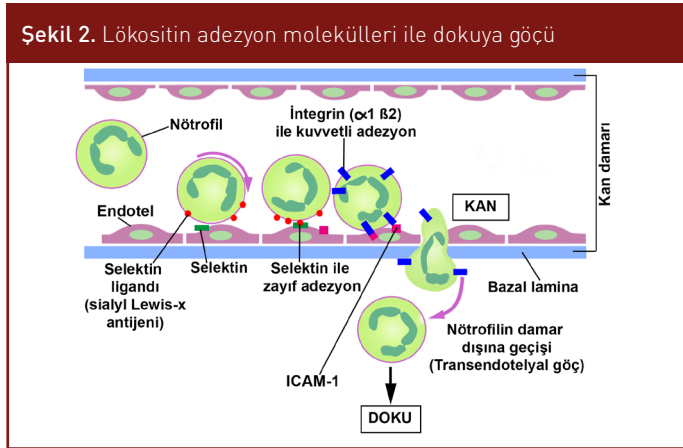
Farklı kaderin salgılanması özellikle embriyonik gelişim esnasında belirgindir. Başlangıçta oosit ve erken embriyonun bütün hücreleri çok farklı kaderinler sentez ederler. Örneğin, memeli embriyosu oluşurken ektoderm tabakası E-kaderin salgılar, bunun yokluğunda ise embriyo ölür.  $\beta$ -katenin transkripsiyonel kofaktör olarak iş gördüğünden **kolorektal karsinogenez** de önemli rol oynar. Kaderinler aracılığı ile olan birleşmeler tümör invazyonunu, göç olaylarını ve hücre büyümesini etkiler. Kaderinlerin yokluğu kanserin yayılmasına (metastaza) yardımcı olur.

### Selektin Ailesi

Selektinler  $Ca^{2+}$  bağımlı hücre yüzey karbohidratlarına bağlanan proteinlerdir. Her bir selektin karbohidrat tanıma domaini ile spesifik oligosakkarit içeren glikoproteine veya glikolipite bağlanan bir transmembran proteindir. Karbohidrat tanıma domaininin moleküler değişimi  $Ca^{2+}$  ile kontrol edilir. Selektinlerin kan akımında hücre-hücre adezyonunda geçici rolleri vardır. Lökositler ve trombositler damar endotel hücreleri ile ilişkilerinde selektinleri kullanırlar. Üç sınıf hücre yüzey selektini vardır: L-selektin lökositler, P-selektin trombosit ve aktif endotel hücreleri, E-selektin aktif endotel hücrelerinde bulunur.

Selektinler, integrinler ve Ig süper ailesi ile geçici hücre-hücre adezyonunda rol oynarlar. Örnek olarak dolaşımdaki monosit, nötrofil, B ve T hücrelerinin inflamasyon bölgesinde damar dışına göçleri sırasında endotel hücreleri ile aralarında meydana gelen adezyon verilebilir. Selektinler timüsdan kökenlenen T hücrelerinin periferik lenf düğümlerine göçünde rol alır. P-selektin endotel hücrelerinin sitoplazmik veziküllerinde depolanır. Endotel hücreleri inflamasyon sinyali ile aktifleştiğinde bu veziküller hücre membranı ile birleşir ve hücre yüzeyine çıkan selektin lökositlere bağlanmayı sağlar. **Selektinler**, lökosit yüzey karbohidratları olan **sialyl Lewis-x antijeni** tanırlar. Selektinin bu antijenle bağlanması kanda lökosit akışını yavaşlatır ve endotel hücre yüzeyinde yavaşlanmalarına neden olur. Lökositlerin endotel hücrelerine adezyon ile tutunması gerçekleşir. Bunu lökositlerin yüzeyindeki integrinlerin endotel hücrelerinin yüzeyinden salgılanan Ig süper ailesine bağlandığı daha kalıcı adezyonların oluşumu takip eder. Sıkıca bağlanan lökosit daha sonra kapiler endotel hücrelerini geçerek dokuya girer. Hücre göçü esnasında integrin ekstraselüler matriks bağlantısı önemlidir. Örneğin, lökositin damar dışına göçü esnasında  $\alpha_1\beta_2$  integrin endotel hücre yüzeyi ligandı olan Ig

ailesinden **hücreler arası adezyon molekül 1 (ICAM1)**'e kuvvetle bağlanır. İnflamasyon sürecinde endotel hücre yüzeyinde bulunan ICAM1 lökosit göçünü kolaylaştırır (Şekil 2).



### İmmünglobulin Süper Ailesi

İmmünglobulin (Ig) süper aile proteinleri, antikor moleküllerine benzer 2 ila 6 adet katlanmış parça içerir. Tek bir genden kodlanan Ig süper aile üyeleri alternatif kesilmeler ile oluşurlar. Hücreler arası adezyon moleküllerinin integrinlere bağlanması heterofilik ilişkiye örnektir. Ig süper ailesinin diğer üyeleri homofilik ilişki gösterir yani bir hücrenin yüzeyindeki adezyon molekülü diğer bir hücrenin yüzeyinde aynı moleküle bağlanır. **Nöral hücre adezyon molekülü (NHAM)**  $Ca^{2+}$  bağımlılığı göstermeyen en yaygın hücre-hücre adezyon molekülüdür. NHAM'nün 20'den fazla farklı çeşidi biliniyor ve bütün şekillerinde polipeptit zincirinin hücre dışındaki büyük parçası Ig-benzer şekilde katlanmış 5 parça içerir. NHAM sinir hücrelerinden salgılanan Ig süper ailesinin üyesidir. Nöral hücre adezyon molekülleri arasındaki homofilik bağlanma gelişim esnasında sinir hücreleri arasında seçici ilişkilerin oluşumuna katkıda bulunur. NHAM ve diğer Ig süper ailesinin **gelişim ve yenilenmede** rolleri vardır.

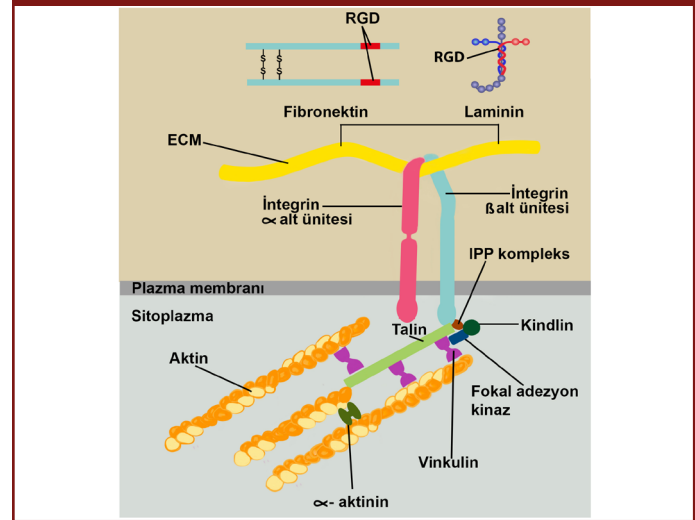
Ig-hücre adezyon molekülleri sinyal oluşumuna katkıda bulunurlar. Antijen sunan hücrenin major doku uygunluk kompleksi (MHC) proteini ile T hücre reseptörü zayıf bağlanır. Daha sonra T hücre içi sinyal ile aktifleşen lenfosit fonksiyonu ile ilişkili antijen 1 (LFA1) integrini Ig-hücre adezyon molekülü (IHAM) ile kuvvetli bağlantı yapar. Böylece IHAM diğer hücrelere antijenleri taşıyan MHC molekülleri ile antijene özel T hücre reseptör ilişkisini kuvvetlendirir. IHAM ve vasküler hücre adezyon molekülleri T hücre bağlanmalarında ve lökositlerin endotel hücrelerine bağlanmalarında rol oynarlar. Ig-benzer hücre adezyon proteinlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlar ciddi **nörolojik bozukluklara** neden olur. Örneğin, insanda L1 HAM gen mutasyonu zekâ geriliğine ve nörolojik bozukluklara yol açar.

### İntegrinler

İntegrinler ekstraselüler matriks için başlıca hücre reseptörleridir. İntegrinler hücre yapısı ve büyümesini kontrol eden adeziv ligandlar ile ilgili bilgiyi nakleden sinyal ileti reseptörleridir. Transmembran bağlayıcı olarak integrinler, sitoplazmada ve ekstraselüler matriksde ara filament ve aktin filamentine bağlanmada iş görürler (hemidesmozom ve fokal adezyon). İntegrinler **α** ve **β** olarak

adlandırılan iki transmembran glikoprotein alt ünitelerden oluşan heterodimerlerdir. ~22 çeşit integrin heterodimeri 24 çeşit  $\alpha$  ve 9 çeşit  $\beta$  alt ünitesinden oluşur. Bu farklılık bazı integrin RNA'larının alternatif kesimleri ile daha da arttırılır. Bu yüzden farklı hücre tiplerinde integrin molekülü farklı ligand bağlanma özelliklerine sahip olabilir.  $\beta$  alt ünitesinin ekstraselüler bölgesinde sisteyinden zengin tekrarlayan bölgeler bulunur.  $\alpha$  alt ünitesi disülfid köprüleri ile bağlı iki parçadan oluşur ve iki değerli katyonların bağlandığı oval bir baş bölgesine sahiptir. İntegrinlerin ekstraselüler domaini bazal membranda bulunan laminin ve fibronektinde mevcut olan RGD (arginin-glisin-aspartik asid) dizisine bağlanır. İntegrin matriksde ligandına bağlanır ve  $\beta$  alt ünitesinin sitoplazmik ucu adaptör proteinler olan talin, IPP kompleks (integrin-bağlı kinaz, PINCH ve parvin), fokal adezyon kinaz, vinkulin, kindlin ile ilişkiindedir (Şekil 3).

**Şekil 3. İntegrin molekülü ekstraselüler matriksi aktin filamentlerine bağlar**



İntegrinler hücrenin bulunduğu çevreye bağlı olarak şekil ve dağılımlarında farklılık gösterirler. İntegrinler fiziksel dayanıklılığı arttırmak için bazal laminadaki laminin ile epitel hücreleri veya kas hücreleri arasında bağlantıyı sağlarlar. Epitel hücrelerinde bol miktarda bulunan  $\alpha 6 \beta 4$  integrin molekülü ekstraselüler matriks (ESM) yapısındaki ligandı laminine bağlanır. İntegrinler fibroblast ve lökositlerin ekstraselüler matriksdeki fibronektin ve kollajene tutunmasını sağlar. Örneğin, fibroblast kültüründe  $\alpha 5 \beta 1$  integrin, hücrenin ESM elemanı olan fibronektine bağlanmasında aracılık eder. İntegrin aktivasyonunun üç boyutlu yapısındaki değişiklikler ile oluştuğu ileri sürülmektedir. Aktif yapıdaki  $\beta$  integrin fibronektin veya laminine sitoplazmada ise aktine bağlanarak iki yönlü sinyal reseptörü olarak iş görür. İntegrinin ligandına bağlanması durumunda sitozoldeki ucu değişikliğe uğrayarak sitoplazmik proteinlerle etkileşimi değişir. İntegrinler ekstraselüler matriks molekülleri ile adeziv yapılarını değiştirerek **hücre içi olaylara cevap** oluştururlar. Ayrıca hücre dışı olaylara cevap olarak hücrenin göçü, çoğalması, sağ kalımı gibi fonksiyonlarını kontrol eden sinyal yolları integrinler aracılığıyla gerçekleşir. İntegrin-ekstraselüler matriks ilişkisi embriyogenez esnasında **hücre göçü** için kritiktir. İntegrinler hücre-hücre ilişkisi için de önemlidir. Örneğin, gelişim sırasında integrin aktivasyonu ile hücrel etkileşimler düzenlenir. İntegrinler hücre-matriks adezyonunu sağladığından **lökosit adez-**

**yon eksikliği tip I** olarak adlandırılan genetik hastalıkta  $\beta 2$  sentez edilemez. Bu kişilerin lökositleri  $\beta 2$  reseptör ailesini içermediğinden, sıklıkla tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlara maruz kalırlar.  $\beta 3$  integrinler trombositler ve çeşitli hücrelerde bulunurlar. Trombositler pıhtılaşma esnasında fibrinojenle ilişki kurarlar.  $\beta 3$  integrinler fibrinojen içeren çeşitli matris proteinlerine bağlanırlar. **Glanzmann** hastalığı olan insanlarda  $\beta 3$  integrinlerinin eksikliği nedeniyle aşırı kanama olur.<sup>1-10</sup>

### Klinik Önemi

Memeli embriyosu oluşurken ektoderm tabakası E-kaderin salgılar, yokluğunda embriyo ölür.

İnsan nöron hücre yüzeyinde bulunan L1 adezyon molekülündeki mutasyon nörolojik bozukluklara ve zekâ geriliğine yol açar.

Glanzmann hastalarında  $\beta 3$  integrin eksikliği nedeniyle aşırı kanama olur.

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Declaration of Interests:** The author declares that she has no competing interest.

### Kaynaklar

1. Alberts B, Heald R, Johnson A, et al. *Molecular Biology of the Cell*. 7<sup>th</sup> Ed. New York: W. W. Norton & Company, 2022.
2. Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach*. 8<sup>th</sup> Ed. New York, Sinauer Associates, 2019
3. Goodman, SR. Ed. *Goodman's Medical Cell Biology*. 4<sup>th</sup> Ed. USA, Elsevier, 2021.
4. Kadry YA, Calderwood DA. In: Ch 22: Structural and Signaling Functions of Integrins. *Biochim Biophys Acta Biomembr*. 2020;1862(5): 183206. **[Crossref]**
5. Moreno-Layseca P, Icha J, Hamidi H, Ivaska J. Integrin Trafficking in Cells and Tissues. *Nat Cell Biol*. 2019;21(2): 122-32. **[Crossref]**
6. Lodish H, Berk A, Kaiser C, et al. *Molecular Cell Biology*. 9<sup>th</sup> Ed. Macmillan Learning, 2021.
7. Hulpiau P, van Roy F. Molecular Evolution of the Cadherin Superfamily. *Int J Biochem Cell Biol*. 2009;41(2): 349-69. **[Crossref]**
8. Zhitnyak IY, Rubtsova SN, Litovka NI, Gloushankova NA. Early Events in Actin Cytoskeleton Dynamics and E-Cadherin-Mediated Cell-Cell Adhesion During Epithelial-Mesenchymal Transition. *Cells*. 2020;9(3): 578. **[Crossref]**
9. Pollard TD, Earnshaw WC, Lippincott-Schwartz J, Johnson GT. *Cell Biology*. 3<sup>rd</sup> Ed. Philadelphia, Elsevier, 2017.
10. Harjunpää H, Lloret Asens M, Guenther C, Fagerholm SC. Cell Adhesion Molecules and their Roles and Regulation in the Immune and Tumor Microenvironment. *Front Immunol*. 2019;22; 10:1078. **[Crossref]**

# **BÖLÜM 9**

## **HÜCRE BAĞLANTILARI VE EKSTRASELÜLER MATRİKS**

# Hücre Bağlantıları ve Ekstraselüler Matriks

## Cell Junctions and Extracellular Matrix

### BÖLÜM HAKKINDA

Hücre bağlantıları; sıkı bağlantı, tutucu bağlantılar ve haberleşme bağlantıları olarak üçe ayrılabilir. Sıkı bağlantılar membran içeriklerinin difüzyonunu önler ve lümendeki maddelerin hücre içinden taşınmasını sağlarlar. Adherens bağlantı yani adezyon kemerinin kasılması ile nöral tüp oluşur. Aktine-bağlı hücre-matriks adezyon yapısındaki integrinler göç eden hücrelerin ekstraselüler matrikse tutunmasını sağlarlar. Desmozom desmoglein ve desmokolün ile komşu hücreleri birbirine bağlar ve gelişim esnasında hücre pozisyonlarını korumada önemli bir rol oynar. Hemidesmozom epitel hücrelerini bazal laminaya bağlar. Gap bağlantılar komşu hücre membranlarında binlerce konneksunun biraraya gelmesi ile oluşur. Konnekson eksenini etrafında eğilebilen altı adet konneksinden oluşmuş silindirik bir yapıdır. Gap bağlantı hücreler arası haberleşmeye doğrudan izin veren bağlantı bölgesidir. Gap bağlantılar hücre grupları arasındaki fonksiyonun koordinasyonu, büyüme ve farklılaşmanın düzenlenmesinde rol oynar. Ekstraselüler matriks (ESM) çeşitli protein ve polisakkaritler ile onları salgılayan hücrelerin bulunduğu bir ortamdır. ESM hücre içi sinyal yollarını aktifleştirerek hücre büyümesi, çoğalması ve gen ekspresyonunu düzenler. Glikozaminoglikanlar çekirdek proteine kovalent olarak bağlanan polisakkaritlerdir. Fibröz proteinler elastik ve kollajen liflerdir. Glikoproteinler ise fibronektin ve laminindir. Bazal membran başlıca tip IV kollajen, laminin, fibronektin ve heparan sülfat proteoglikan gibi ESM bileşenlerini içerir. ESM, matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) ile parçalanırken, doku inhibitör MMP'ler (TIMP'ler) ile dengelenir.

**Anahtar kelimeler:** Sıkı bağlantı, tutucu bağlantılar, gap bağlantı, ekstraselüler matriks, bazal lamina

### ABOUT the CHAPTER

Cell junctions can be divided into tight junction, anchoring junctions and communication junctions. Tight junctions prevent diffusion of membrane contents and allow transcellular transport of substances within the lumen. The neural tube is formed by the contraction of the adherens junction, that is, the adhesion belt. Integrins in the actin-linked cell-matrix adhesion structure allow the migrating cells to attach to the extracellular matrix. The desmosome connects adjacent cells via desmoglein and desmocholine and plays an important role in maintaining cell positions during development. Hemidesmosome attaches epithelial cells to the basal lamina. Gap junction is formed by the assembly of thousands of connexons on adjacent cell membranes. A connexon is a hollow cylindrical structure consisting of six connexins that can bend tangentially to the channel. The gap junction channels are unique properties that allow direct communication between adjacent cells. Gap junctions are involved in the coordination of function between groups of cells and the regulation of growth and differentiation. The extracellular matrix (ECM) is a medium comprising various proteins, polysaccharides and the cells that secrete them. It regulates cell growth, proliferation and gene expression by activating intracellular signaling pathways. Glycosaminoglycans are polysaccharides that are covalently linked to the core protein. Fibrous proteins are elastic and collagen fibers. The glycoproteins are fibronectin and laminin. The basement membrane mainly contains ECM components such as type IV collagen, laminin, fibronectin and heparan sulfate proteoglycan. ECM is degraded by matrix metalloproteinases (MMPs) while balanced by tissue inhibitory MMPs (TIMPs).

**Keywords:** Tight junction, anchoring junctions, gap junction, extracellular matrix, basal lamina

## Hücre Bağlantıları

Hücre-hücre ve hücre-matriks bağlantı kompleksleri fonksiyonel olarak üç gruba ayrılır. I-Sıkı bağlantı (Tight junction), II-Tutucu bağlantılar (Anchoring junctions), III-Haberleşme (kanal oluşturan) bağlantılar örneğin, gap junction (Şekil 1)<sup>1</sup>.

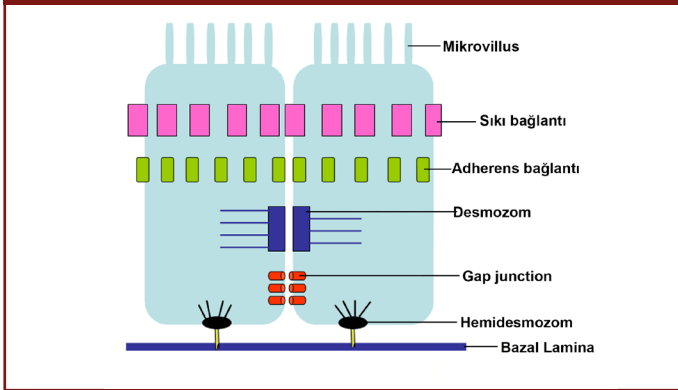
### I- Sıkı Bağlantı

Sıkı bağlantı yapısında hücreler arası alanda **okludin, klaudin**, nektin, bağlantı adezyon



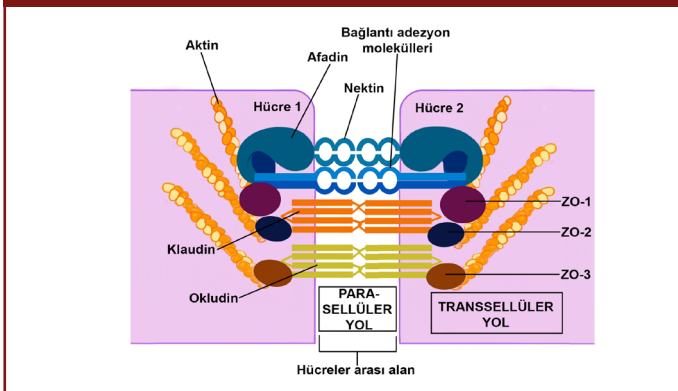
CC BY 4.0: Telif hakkı yazarlardadır. Bu kitabın içeriği Creative Commons Atif 4.0 Uluslararası lisans altında lisanslanmıştır.



Şekil 1. Hücre-hücre ve hücre-matris bağlantı kompleksleri<sup>1</sup>

molekülleri yer alır ve sitoplazmik ZO1, ZO2, ZO3, afadin proteinleri ile **aktine** bağlanır. Sıkı bağlantının iki membranı birleştiren tetraspanin ailesine ait 27 çeşit klaudin (Latince *claudere*, "to close") ve okludin transmembran proteinleri (iki sitoplazmik kuyruk ve iki lop ile dört transmembran domain) sitoplazmik membran proteinleri ile hücre içindeki aktin filamentlerinden destek alır. Bazı klaudinler paraselüler yoldan lümen içeriğinin geçişine imkân verirken bazıları membranları birleştirerek engeller. Bu yüzden dokular içerdiği klaudin çeşitliliğine bağlı olarak farklı yüklü iyonlara sahip bileşikler için geçirgen olabilir. Sıkı bağlantılar membran içeriklerinin difüzyonunu önler böylece apikal yüzey ile bazolateral yüzey farklılıkları korunmuş olur. Ayrıca bu oluşumun amacı lümendeki maddelerin taşınmasını hücreler arası alandan (paraselüler) değil, hücre içinden yani (transselüler) yapılmasını sağlamaktır (Şekil 2).

Şekil 2. Sıkı bağlantı yapısı



Lanthanum hidroksit enjeksiyonundan sonra bu maddenin asiner hücre sıkı bağlantı yapısını geçemediği görülmüştür. Pankreas asinüslerinde sıkı bağlantılar pankreasdan salgılanan sindirim enzimlerinin lümenden kana geçişini önler. Böbrek distal tübül ve idrar kesesi epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar oldukça konsantre olan toksinlerin ekstraselüler alana sızmasını önler. Sıkı bağlantılar anyonlardan ziyade katyonlara daha geçirgen olup genellikle 1.8 nm çapından daha büyük moleküllerin difüzyonuna imkân vermezler. Sıkı bağlantıların küçük moleküllere karşı geçirgenliği dokulara göre değişir örneğin; idrar kesesi epiteli ile bağırsak epitelinin sodyum iyonuna karşı geçirgenliği farklıdır. Sıkı bağlantıların kapanması hormonlar, sitokinler gibi hücre içi sinyaller ve hücre metabolik aktivitelerle düzenlenir. Sıkı bağ-

lantılar bağırsak epitel komşu hücre membranlarının kaynaştığı bölgelerde difüzyon bariyeri oluşturarak glukoz taşıyıcılarının apikalden laterale geçmesini önler. Glukozun transselüler taşınması gerçekleşir.

İnflamatuvar bağırsak hastalığı gibi çeşitli bağırsak hastalıklarının patogenezinde klaudin bozuklukları; artmış bağırsak geçirgenliği, sürekli inflamasyon aktivasyonu ve epitelde mezenşime geçişi etkileyerek önemli rol oynar. Sıkı bağlantılar bağırsak lümen içeriği ve lamina propria içinde oluşan mukozal bağışıklık arasında ayırım sağlar. Sıkı bağlantılar arasından protein ve bakteriyel liposakkaritlerin geçişi sıkı bağlantı bütünlüğünü etkileyen tümör nekroz faktör- $\alpha$  ve interferon (IFN)- $\gamma$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin varlığını artırır. Bağırsak mukozasında kontrol edilemeyen proinflamatuvar sitokin sinyalleri sıkı bağlantılardan antijen geçişini arttırarak sonuçta **kronik inflamatuvar bağırsak hastalıklarına** neden olur.

Beşin ve omuriliğin çoğu bölgelerinde endotel hücreleri sıkı bağlantılarla birleşmiştir. Nöron ile kapiler arasında köprü görevi gören fibröz astosit bulunur. Sürekli tipteki kapilerde delik ve geçitlerin yokluğundan dolayı iyondan proteine değişik büyüklükteki moleküllerin kan yolu ile doğrudan nörona geçişi önlenir. Endotel hücre apikalindeki sıkı bağlantı fiziksel engeli **kan-beyin bariyeri** olarak adlandırılır. Testisdeki seminifer tübüllerdeki komşu Sertoli hücreleri sıkı bağlantı ile birbirlerine bağlıdırlar. Sertoli hücrelerinin bazal kısmına yakın yerleşim gösteren sıkı bağlantılar, adherens bağlantılar ve gap bağlantılar ile **kan-testis bariyerini** oluşturur. Bu bariyer spermatogenez esnasında yeni oluşan spermatojenik hücrelerin kan ile irtibatını keserek toksik madde geçişini ve otoimmün cevap oluşumunu engeller. Klaudin 14 genindeki bir mutasyon **kalmımsal sağırılık** nedenidir. Çünkü mutasyona bağlı olarak iç kulakta işitme reseptör hücrelerinin  $K^+$  geçişi değişir. **Kalıtımsal hipomagnezemi** hastalığında klaudin 16 gen mutasyonu ile böbreklerdeki sıkı bağlantılarda  $Mg^{2+}$  normal paraselüler akışının bozulması ile kanda  $Mg^{2+}$  seviyesi düşer. **Menenjit** gibi inflamatuvar durumlar, kan-beyin bariyerinin bütünlüğünü azaltabilir.

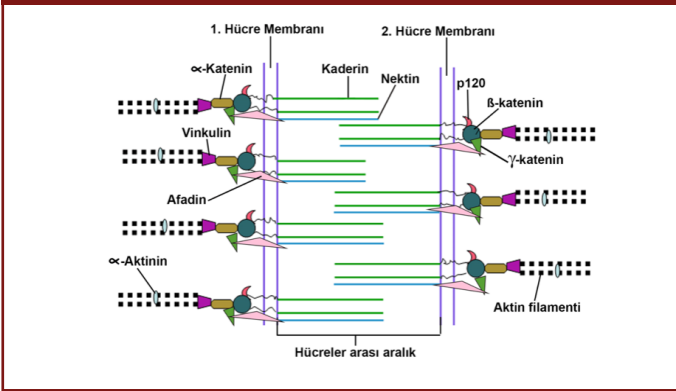
## II-Tutucu Bağlantılar (Anchoring Junction)

Tutucu bağlantılar fonksiyonel olarak iki alt sınıfa ayrılabilir: 1-Adherens bağlantı ve desmozom bağlantı tiplerinde *kaderin* adezyon proteinleri ile iki komşu hücre bir arada tutulur. 2-Aktine-bağlı hücre-matris adezyonu (fokal adezyon) olarak adlandırılan geçici bağlantı ve hemidesmozom tipi bağlantıda *integrin* adezyon proteinleri hücrelerin ekstraselüler matrikse bağlanmasını sağlar. Tutucu bağlantılar içerdikleri hücre iskeleti çeşidine göre sınıflandırılırsa aktin filamentine bağlananlar adherens bağlantı ve fokal adezyon, ara filamentte bağlananlar ise desmozom ve hemidesmozom olarak da ayrılabilir.

### 1-Adherens Bağlantı

Hücre-hücre bağlantısı olan adherens bağlantı *kaderin* adezyon proteinleri, adaptör (anchor) proteinler ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -kateninler, p120 katenin,  $\alpha$ -aktinin ve vinkulin) aracılığı ile aktin filamentine bağlanır. Hücreler arası alanda kaderinlerin dışında nektin proteini sitoplazmadaki afadin proteini ile aktine bağlanır (Şekil 3)<sup>1</sup>. Embriyogenezin üçüncü haftasında, embriyonun dorsal orta hattında bulunan ekdoderm kalınlaşmaya başlar ve nöral plak oluşur. Aktin filamentleri ile hücreyi kemer gibi saran adherens bağlantı yani

adezyon kemerinin kasılması ile nöral plak çukurlaşır ve karşılıklı gelen hücreler adeziv maddeler ile yapıştırılarak *nöral tüp* oluşur. E-kaderin aktivitesi epitel- mezenkimal geçiş ve kanser gelişiminde kaybolur. İdrar kesesi fonksiyon bozukluklarında adherens tipi bağlantıların azaldığı immünohistokimyasal yöntemlerle gösterilmiştir. Hücre göçünde kaderinlerin miktar ve yapısında değişiklikler meydana gelir. Örneğin, epitel hücrelerinin melanom kanser hücrelerine dönüşümünde E-kaderin aktivitesi belirgin olarak kaybolur. Embriyonik gelişim esnasında kaderinlerin önemli rolleri vardır. Örneğin kurbağalarda erken embriyonik dönemde ana kaderin türü eksikliğine bağlı olarak normal organizasyon bozulur.

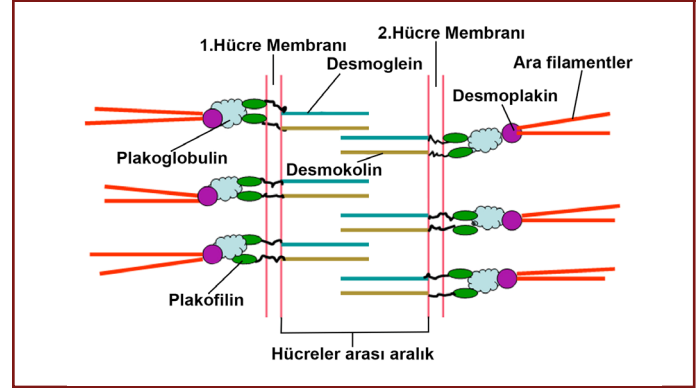
Şekil 3. Adherens bağlantı<sup>1</sup>

## 2- Aktine-bağlı hücre-matriks adezyonu

Hücre-matriks bağlantısı olan aktine-bağlı hücre-matriks adezyonu (fokal adezyon) yapısındaki integrinler ekstraselüler parçaları ile ekstraselüler matrikse bağlanırlar. Integrin  $\beta$  alt ünitesinin sitoplazmik ucu adaptör proteinler ile aktine bağlanır. Farklı alt ünitelere sahip 24 tip integrin farklı ekstraselüler matriks (ESM) proteinlerine bağlanır. İnsanda 8 farklı  $\beta$  zinciri ve 18 farklı  $\alpha$  zincir genleri ile 24 çeşit heterodimer integrin oluşur. Aktif konformasyon durumunda  $\beta$  integrinin baş kısmı fibronektin veya lamininin RGD (arginin-glisin-aspartik asid) dizisini tanıır. Epitel hücrelerinde yaygın olarak eksprese edilen  $\alpha 5 \beta 4$  integrin ligandı olan laminine bağlanırken  $\alpha 5 \beta 1$  integrin ise fibronektine bağlanır.  $\alpha 1 \beta 1$  ve  $\alpha 2 \beta 1$  integrin heterodimerlerinin ligandları ise kollajen I ve IV'dür. Geçici adezyonlar belirli hücre tiplerinin hareketine yardımcı olur örneğin, immün yanıt aşamasında kimyasal ajanlara doğru hareket eden lökositlerin göçü kolaylaşır. Lökositler adezyon plağı oluşturmak için integrinler ile ESM'deki moleküllere tutunarak göç edebilirler. **Lökosit adezyon eksikliği** hastalığında  $\beta 2$  integrin sentez edilemediğinden o kişiler sıklıkla tekrarlanan bakteri enfeksiyonlarına maruz kalırlar. **Glanzmann hastalığı** pıhtılaşma esnasında trombositlerde bulunan  $\beta 3$  integrin fibrinojenle ilişki kurduğundan,  $\beta 3$  integrin eksikliği olan bireylerde kanama bozukluğu olur. Fokal adezyonlar içerdikleri birçok protein kinaz ile uyarı iletiminde iş görürler. Tirozin kinaz integrinlerin sinyal fonksiyonlarını gerçekleştirir. Fokal adezyonlar tirozin fosforilasyonunun en bol olduğu yerlerdir. **Fokal adezyon kinaz (FAK)**, tirozin fosforilasyonunda iş gören sitoplazmik tirozin kinaz adaptör proteindir. Çoğu kanser hücresinde FAK seviyesinin yükselmesi hücrelerin hareketliliğini gösterir. Göç eden hücreler örneğin, fibroblastlar fokal adezyon yapısındaki integrinler ile ekstraselüler matrikse tutunurlar.

## 3- Desmozom

Hücreler arası bağlantılardan olan desmozom iki çeşit kaderin (desmoglein ve desmokolin) adezyon proteini ile komşu iki hücreyi bağlar. *Desmoplakin*, *plakoglobulin* ve *plakofilin* proteinlerinden oluşan sitoplazmik plaklar kaderinlere bağlanır. Desmozomlar hücre tipine bağlı olarak farklı ara filamentlere bağlanırlar. Örneğin; epitel hücrelerinin çoğu keratin ara filamentine bağlanırken, kalp ve kas hücreleri desmin ara filamentine bağlanır (Şekil 4)<sup>1</sup>.

Şekil 4. Desmozom yapısı<sup>1</sup>

Bu bağlantı tipinin bulunduğu hücrelerin genel özelliği büyük ölçüde mekanik strese maruz kalmalarıdır. Desmozom bağlantıları erken embriyonik gelişim aşamasında oluşur ve devam eden gelişim sürecinde hücre pozisyonlarının korunmasında önemli rol oynarlar. Desmoplakin gen mutasyonu sonucu **aritmojenik sağ ventrikül kardiyomiyopatisi** (ARVC) görülür. ARCV'nin bir formu olan **Naxos kalp kasi** hastalığı plakoglobulin gen mutasyonu ile ortaya çıkar. Otoimmün deri hastalığı olan **pemfigus**'da bireyler kendi desmozomal bağlantılarında bulunan kaderin proteinlerine karşı otoantikör üretirler. Desmoglein 3'e karşı otoantikör gelişimi pemfigus vulgaris hastalığına neden olur.

## 4-Hemidesmozom

Hücre-matriks bağlantısı olan **hemidesmozom** epitel hücrelerini bazal laminaya bağlar. Transmembran proteinler olan  *$\alpha 6 \beta 4$  integrin* ve *tip XVII kollajen* hemidesmozom bağlantılarının oluşumunda ve dayanıklılığında rol oynarlar. Plektin ve BP230 (Bullous pemfigoid antijen 1; BPAG1) plakin ailesine ait olup **ara filamentte** bağlanmada iş görürler. Integrinlerin ekstraselüler kısmı bazal lamina yapısındaki laminin proteinine bağlanır, intraselüler kısmı ise adaptör proteinler (plektin, BP230 ve BP180) aracılığı ile keratin ara filamentine tutunur. **Büllöz pemfigoid** olarak adlandırılan kabarcıklı deri hastalığında otoantikörler hemidesmozom bağlantılarındaki tip XVII kollajenin ekstraselüler parçasına yani büllöz pemfigoid antijen 2 (BPAG2)'ye bağlanır (Şekil 5). Plektinde meydana gelen mutasyonlar kas distrofi hastalığı ile ilişkili deri kabarcıklarına neden olur.

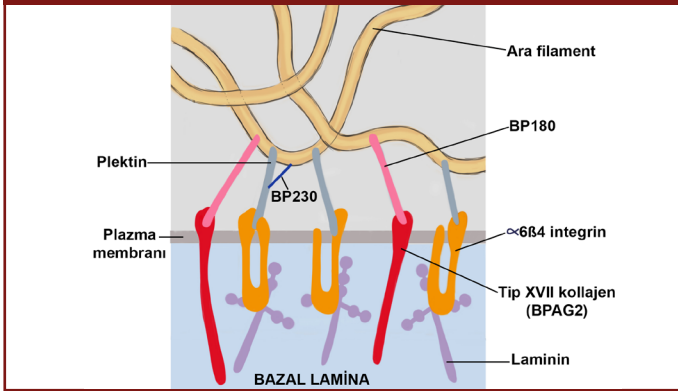
## III-Haberleşme Bağlantıları

Haberleşme (kanal oluşturan) bağlantılardan **gap** (aralıklı) **bağlantılar** (junctions) komşu hücre membranlarında çok sayıda konneksunun biraraya gelmesi ile oluşur. **Konnekson**, konneksin adı verilen altı benzer ünitelerden oluşan ve eksenini etrafında eğilebilen silindirik bir yapıdır. Konneksin 2 nm lik merkezi bir ka-



nal etrafında sıralanmış altı adet **konnekstinden** oluşur. İnsanda ayrı genler tarafından kodlanan 21 farklı konneksin bilinmektedir. Komşu hücre membranları arasında 2 nm aralığın olduğu kanal benzeri yapısından dolayı gap (aralıklı) bağlantı adı verilmiştir (Şekil 6). Gap bağlantılar hücreler arası haberleşmenin doğrudan gerçekleştiği bağlantı bölgeleridir. Çoğu hayvan hücresinde haberleşme çizgili kas ve kan hücreleri hariç gap bağlantıları aracılığı ile gerçekleşir. Her bir konneksin molekülü amino ve karboksil uçları ile dört transmembran geçiş, iki ekstraselüler ve bir sitoplazmik ilmek içerir. Konneksin molekülünün yarılanma ömrü birkaç saattir. Elektron mikroskop ile gap bağlantı yapısı interselüler aralıkta hafif granüller şeklinde görülür. Konneksinler esas olarak transkripsiyon sonrası değişiklikler ve karboksil ucundaki proteinler aracılığı ile tümör büyüme ve göçünde iş görürler. Konneksin kanalları ekstraselüler veziküllerde ve eksozomlarda da bulunmaktadır ve hücreler arasında nanotüp oluşumuyla da haberleşme sağlanmaktadır. Hayvan hücrelerinde plazma membranının tüp şeklinde uzantıları ile sitoplazmik içerikler birbirine bağlanır. Bitki hücrelerinde bulunan plazmodesmalar ile analog yapılar olan nanotüplerin çapı 50–300 nm arasında değişir. Nanotüpler ile komşu hücreler arasında küçük moleküllerin, organelerin ve patojenlerin geçişi kolaylaşır.

Şekil 5. Bir hemidesmozomun şematik yapısı

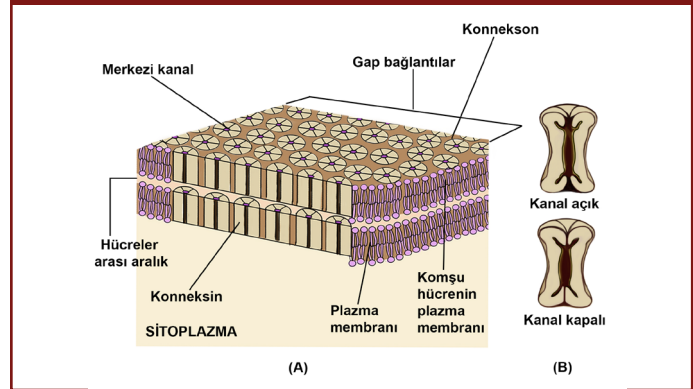


İki komşu hücre membranı karşılıklı konneksin yapıları ile bağlantıdadır ve konneksin merkezinde yer alan kanallar aracılığıyla hücreden hücreye **direkt geçiş** mümkündür. Gap bağlantıları hücreler arasında elektrokimyasal devamlılığı sağlayan iyonların, bilgi ağını kurma görevine sahip ikincil habercilerin, kaynakların paylaşımı için metabolitlerin geçişine izin verir. Ancak bu bağlantı tipi proteinler, nükleik asitler ve polisakaritler gibi makromoleküllerin geçişine izin vermez. Temelde küçük metabolitlerin ve iyonların paylaşımı ile komşu hücrelerin aktivitelerini koordine eden bir mekanizma oluşur. Canlı hücrelerde konneksinlerin işaretleme ile yeni konneksinlerin mevcut bağlantıya periferden eklendiği eski konneksinlerin ortada yok olduğu gösterilmiştir. Sinir ve immün sistem hücreleri gibi hemen hemen tüm hücrelerde konneksinlerden farklı bir kanal oluşturan dört transmembran geçişli **panneksin** proteinleri de panneksinleri oluşturur.

Bir uyarı geldiğinde konneksin merkezindeki kanalın açılması, alt ünitelerin tanjensiyel olarak eğilmesiyle kayma hareketi sonucunda meydana gelebilir. Gap bağlantıların açılıp kapanması yani geçirgenliği konneksinlerin transkripsiyon sonrası modifikasyonları (örneğin, fosforillenmesi), çevresel değişiklikler (örneğin; sitozolik pH ve  $Ca^{2+}$ ), her bir hücrenin membran potansiyeli ve iki komşu

hücre arasındaki voltaj farklılıkları ile düzenlenir. Gap bağlantılarında düşük  $Ca^{2+}$  ve yüksek pH varlığında kanal açıkken geçirgenlik yüksektir, yüksek  $Ca^{2+}$  ve düşük pH'da ise konneksinler kapanır ve geçirgenlik kaybolur.

Şekil 6. Gap bağlantıların şematik yapısı (A), yarım kanalın açık ve kapalı görünümü (B)



Haberleşme bağlantılarından gap bağlantılar büyüme ve farklılaşmanın düzenlenmesinde, hücre grupları arasındaki fonksiyonun koordinasyonunda önemli rol oynar. Gap bağlantıları, epitel hücrelerinde silya hareketinin veya bağırsak düz kas hücrelerinde kasılmanın eş zamanlı gerçekleşmesinde rol oynarlar. Gap bağlantılar, intrauterin gelişimin koordinasyonunu sağlarlar. Embriyonik gelişim aşamasında, hücrelerin belli bir sayıya ulaşması, pozisyonlarının belirlenmesi gibi bilgilerin hücreden hücreye aktarılmasında gap bağlantıları önemli rol oynamaktadır. Ovaryum foliküllerinin normal gelişimi sırasında gap bağlantılar önemli rol oynarlar. Oosit ve granülosa hücreleri arasında ileti aktarımı gap bağlantılarıyla olur. Kalp kası ve düz kas hücrelerinde uyarının hücreden hücreye geçtiği bölgelerdir. Potasyum iyonlarının geçişiyle elektriksel uyarı hücreden hücreye aktarılmış olur. Bazı sinir hücrelerinde de gap bağlantılar hızlı iyon geçişini sağlayarak elektriksel sinapslar oluştururlar.

Konneksin genlerindeki ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  alt aile) mutasyonlar hastalıklara neden olur. Konneksin-26/ $\beta 2$  genindeki resesif mutasyonlar insanda kalıtsal sağırliğin en yaygın nedenidir. Konneksin-26 kulakta işitme reseptör hücrelerini destekleyen epitelde  $K^+$  taşınmasına katılır. Konneksin-32/ $\beta 1$  mutasyonları **Charcot-Marie-Tooth** nöropatisine neden olur. Konneksin-50/ $\alpha 8$  mutasyonları körlüğe neden olan **konjenital katarakt** nedenidir. Kemik hücreleri (osteoblast/ osteositler), konneksin 43 (Cx43) ekspres ederler. Cx43 geninin delesyonu iskelet bozukluklarına neden olur.

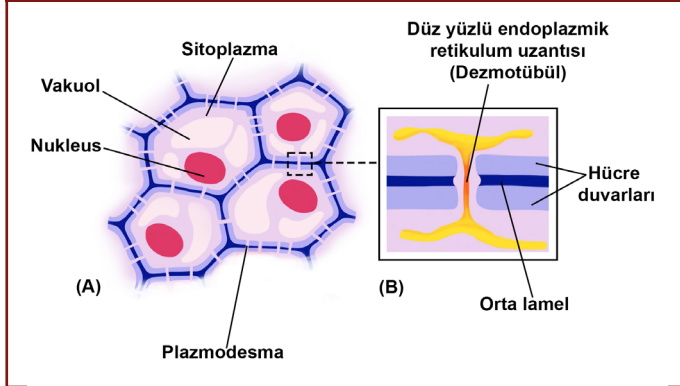
Bitki hücreleri arasındaki haberleşme transmembran proteinler yerine organel uzantısı ile gerçekleşir. Gap bağlantıdan farklı olan **plazmodesma** yapısını iki komşu hücre membranı ortasından geçen kanal olan dezmotübül (çapı 20-40 nm) oluşturur. Bir hücreden diğerine düz yüzlü endoplazmik retikulum uzantısı ile kanal oluşturan plazmodesma iyonların ve küçük moleküllerin geçişini sağlar, bir kD dan daha küçük moleküller bu kanallardan geçebilir (Şekil 7). Plazmodesmanın moleküler bileşenleri henüz tam olarak tanımlanmamıştır.<sup>2-20</sup>

## Ekstraselüler Matriks

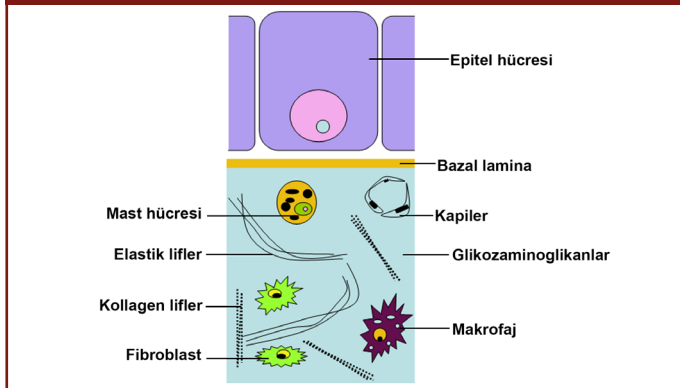
Ekstraselüler (hücreler arası) matriks (ESM) çeşitli protein ve polisakaritler ile onları salgılayan hücrelerin bulunduğu bir or-

tamdır. ESM genellikle dokulara fiziksel destek sağlamanın yanında onunla temasda olan hücrelerin şekil ve fonksiyonunda, gelişiminde, çoğalmasında, canlılığını sürdürmesinde, göçünde önemli fonksiyona sahiptir. ESM, bağ dokusu hücrelerini çevreleyen kollajen lifler, kollajen içermeyen lifler, glikoproteinler ve proteoglikanlardan oluşur. ESM hücre içi sinyal yollarını aktive ederek hücre büyümesi, çoğalması ve gen ekspresyonunu düzenleyerek hücrelerin doku oluşturmada rol oynar. Adezyon reseptörleri ESM'de bol miktarda bulunan kollajen lif, proteoglikan, laminin, fibronektin gibi çeşitli matris moleküllerine bağlanırlar. Glikozaminoglikan olan hyaluronan'a CD44 adezyon reseptörlerinin bağlanması, hücre içi sinyal yolları ile hücre iskeletinin düzenlemesine ve hücre göçüne yol açar. ESM makromolekülleri esas olarak matris içinde bulunan hücreler örneğin; bağ dokuda fibroblastlar, kıkırdak dokuda kondroblastlar, kemikte osteoblast hücreleri tarafından üretilirler (Şekil 8)<sup>1</sup>. ESM farklı dokularda farklı formlarda bulunur. ESM makromoleküllerinin içeriği bulunduğu dokunun fonksiyonuna göre değişir. ESM dış ve kemiklerde kalsifikasyondan dolayı çok sert, dermisin gevşek bağ dokusunda ise oldukça yumuşaktır.

Şekil 7. Plazmodesma (A), daha büyük büyütmede dezmotübülün bir hücreden diğerine geçişi (B)



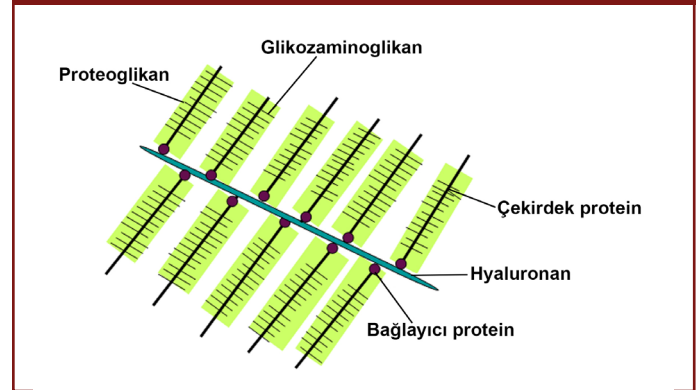
Şekil 8. Bazal lamina ve bağ dokuda ekstraselüler matris elemanları<sup>1</sup>



Proteoglikanlar çekirdek proteine kovalent bağla farklı **glikozaminoglikan (GAG)** zincirlerinin eklenmesiyle oluşur. Proteoglikanlar, GAG'a göre örneğin, proteoglikan kondroitin sülfat olarak adlandırılır. Proteoglikanların çekirdek proteini bağlayıcı protein ile hyaluronan molekülüne bağlanır. Glikozaminoglikanlar tekrarlayan disakkaritlerin doğrusal uzun zincirlerinden oluşurlar.

Tüm GAG'lar asidik şekerler ve/veya sülfatlanmış şekerler içerdiklerinden oldukça negatif bir yük taşırlar. Proteoglikanlar büyüme faktörleri, yapısal proteinler ve hücre yüzey reseptörleri gibi çeşitli ESM bileşenlerine bağlanabilirler. Proteoglikan ekspresyonu hücre tipine özeldir ve gelişimsel olarak düzenlenir. GAG'lar hyaluronan hariç çekirdek proteine bağlanarak proteoglikanları oluştururlar (Şekil 9)<sup>1</sup>. Proteoglikanların çekirdek proteini granülü endoplazmik retikulumda sentez edilir ve Golgi kompleksinde GAG'lar kovalent bağla proteine bağlanır. Proteoglikanlar ya hücreden salgılanır ya da hücre membranına tutunurlar. Kıkırdak dokusunda proteoglikan kümeleri, tip II kollajen lifleri ile kompleks oluştururlar. Bu kompleksler kondrositten salgılanan hyaluronan moleküllerine bağlanarak baskı kuvvetini azaltmada rol oynarlar. Bağ dokusunda proteoglikan molekülleri kollajen ve glikoproteinleri içeren jel gibi yapıda yer alırlar.

Şekil 9. Proteoglikan kümeleri<sup>1</sup>



Proteoglikanlar çok çeşitli fonksiyonlara sahiptirler. Proteoglikanlar, proteinlerin salgılanmasını düzenlerler. Bazı hücre membran proteoglikanları hücre yüzey reseptör proteinleri ile birlikte çalışan koreseptörler olarak iş görürler. Proteoglikanların hücreler arasında kimyasal haberleşmede önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Çünkü bunlar çeşitli sinyal moleküllerine bağlanarak sinyal aktivitesini düzenlemektedirler. Örneğin, fibroblast büyüme faktörü heparan sülfat ile bağlantı kurarak hücre çoğalmasını uyarır.

ESM makromolekülleri genellikle üç ana sınıfa ayrılır. I-Proteoglikanlar, glikozaminoglikanların çekirdek proteine bağlanmasıyla oluşurlar. II-Fibröz proteinler, elastik ve kollajen lifleri içeren yapısal proteinlerdir. III-Glikoproteinler, fibronektin ve laminin gibi adeziv proteinlerdir, genelde asparagine bağlı oligosakkaritleri içerir. Memelilerde dokunun ihtiyacına göre farklı bileşenlerin oluşturduğu ~36 proteoglikan, ~40 kollajen ve 200'den fazla glikoproteini kapsayan 300 ESM proteinin bulunduğu düşünülmektedir.

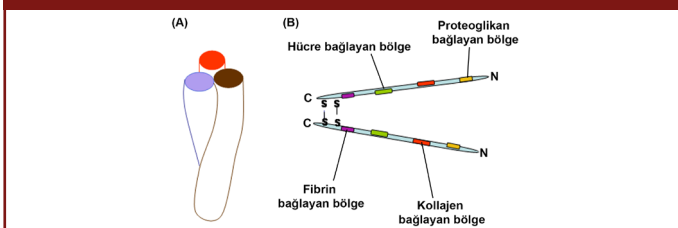
Glikozaminoglikanlar çekirdek proteine eklenen uzun, eğilmeyen, dallanmamış tekrarlayan disakkarit ünitelerinden oluşan polisakkaritlerdir. Disakkaritlerin daima tekrarlayan iki yapısından biri amino şeker (N-asetilglukozamin veya N-asetilgalaktozamin) diğeri ise üronik asit (iduronik veya glukoronik)'dir. GAG'lar içerdikleri şekerlere, şekerler arasındaki bağlantı tipine, sülfat gruplarının sayısına ve lokalizasyonuna göre dört gruba ayrılırlar: 1-Hyaluronan 2-Kondroitin sülfat ve dermatan sülfat. 3-Heparan sülfat. 4-Keratan sülfat. Hyaluronan hariç kondroitin sülfat ve dermatan sülfat, heparan sülfat, keratan sülfat hepsi sülfatlanmışlardır ve

bütün vücut boyunca dağılırlar. Bunlar hidrate jel bir ortam oluşturarak besinlerin, artık maddelerin ve sinyal moleküllerinin hızlı difüzyonuna imkân vererek yapısal destek sağlarlar. Proteoglikan molekülünde GAG zinciri tekrarlayan disakkaritler özel tetrasakkarit (ksiloz, galaktoz, galaktoz, glukuronik asit) ile çekirdek proteinin serin amino asidine bağlanır.

Hyaluronan (hyaluronik asit veya hyaluronat) en basit GAG'dır. Çünkü ne sülfat ne de kovalent bağlı protein içerir. Yetişkinlerin bütün doku ve sıvılarında değişik miktarlarda, embriyonun başlangıcında ise yüksek miktarlarda bulunur. Hyaluronanın dokularda ve birleşme yerlerinde sıkıştırıcı kuvvetlere karşı direnç gösterdiği düşünülmektedir. Ayrıca embriyonik gelişim esnasında alanı doldurması bakımından önemlidir. Hyaluronan göç eden hücreler için uygun bir ortam oluşturur. Yara iyileşmelerinde keza çok miktarda üretilir ve kayganlık sağlar. Çoğu patojen bakteriler örneğin, *Staphylococcus aureus* hyaluronanı parçalayan hyaluronidaz enzimi salgılarlar, böylece ekstraselüler matris katı halden sıvı hale geçer. Bu reaksiyon bakterilerin bağ dokusu aracılığı ile hızla yayılmasına imkân verir. Heparan sülfat bağlı proteoglikan çekirdek proteinleri heparan sülfat proteoglikanlar (HSPG'lar) olarak adlandırılır. Çeşitli hücrelerde sentezlenen hücre yüzey HSPG'ları yetmiş üzerinde farklı proteine bağlanır. Hücre yüzey HSPG'ları büyüme faktörleri veya ESM proteinleri için koreseptör olarak iş görür. Salgı veziküllerindeki HSPG'lar içeriğin paketlenmesine yardımcı olur ve aktif proteazlardan korur, salgılanmadan sonra ise pıhtılaşma, yara iyileşmesi, konak savunması gibi çeşitli işlevlerde rol oynarlar.

Fibröz proteinler ekstraselüler matrisin esas proteinlerindedir. Bunlar çeşitli hücre tiplerinin yanı sıra esas olarak bağ doku hücrelerinden salınırlar. **Kollajen** molekülü uzun, prolin ve glisin amino asitlerinden zengin üç adet  $\alpha$ -zincirinin sarmal oluşturduğu bir yapıdır (Şekil 10A)<sup>1</sup>. Bu protein ailesi bütün vücut proteinlerinin %25'ini oluşturur. Tip 1 kollajen deri ve kemiğin temel kollajenidir. 42 farklı gen ile kodlanan ~40 farklı kollajen içeren büyük bir protein ailesi tanımlanmıştır. Bu genlerin değişik birleşimleri çeşitli dokulardan farklı tip kollajenlerin salgılanmasına neden olur. Endoplazmik retikulumda prolin ve lizin amino asitleri hidroksillenir ve bu hidroksil gruplarının üç iplikli sarmalı sağlamlaştırdığı kabul edilir. Üçlü sarmal bütünleşmesi bir mutasyon nedeni ile yavaşlaşsa amino uç oldukça modifikasyona uğrar ve ekstraselüler alana salınması azalır. Kemikte anormal zincirler ve sayılarının azalması mineralizasyon azalmasına neden olur. Kollajenler molekül yapısı, polimerizasyonu ve doku dağılımına göre beş sınıfa (fibril, ağ, FACIT, boncuk ve transmembran) ayrılır. Örneğin, transmembran sınıfına ait olan tip XVII kollajen epitelde bol miktarda bulunur.

Şekil 10. Kollajen üçlü sarmal (A), fibronektin yapısı (B)<sup>1</sup>



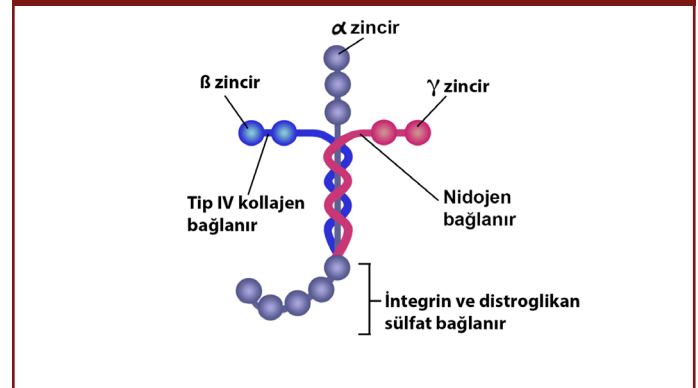
**Elastin** bir diğer fibröz protein olarak bütün vücutta bulunur fakat akciğer, arter duvarları, deri ve bağ dokusunda belirgindir. Bu

dokulardaki elastin proteini lastik bandlar gibi esneklik sağlar. Kollajenlere benzer olarak elastinler de glisin ve prolin amino asitleri bakımından zengindir fakat glikozillenmemiştir. Elastin öncülü olan tropoelastin molekülleri birbirleriyle çapraz bağlanarak elastik lifleri oluşturur. Tropoelastin fibrillin 1 ve 2, fibulin 1 ile birleşerek elastik lifleri, liflerde demetleri oluşturur.

**Fibronektin**, molekülün sonuna doğru disülfid bağları ile birleşen iki büyük alt üniteden oluşan dimerik adeziv bir glikoproteindir (Şekil 10B)<sup>1</sup>. Büyük bir RNA molekülünün farklı kesilmeleri ile fibronektinin çeşitli izoformları oluşur. Omurgalılarda en bol bulunan fibronektin tip III, integrinlere bağlanır. Fibronektin hücre yüzey reseptörleri, kollajen, proteoglikanlar ve kan pıhtılaşma proteini olan fibrine bağlanır. Böylece hücrelerin ekstraselüler matris adezyonunda rol oynarlar. Fibronektinin izoformlarından biri olan plazma fibronektini kan ve diğer vücut sıvılarında pıhtılaşma, yara iyileşmesi ve fagositozu artırır. Hücre yüzeylerinde bulunan diğer formların hepsi çözünmeyen fibronektin fibrili olarak ESM'de bulunur. Fibronektin sadece hücrelerin matris adezyonu için önemli olmayıp embriyonların göç olayında da iş görür. Çeşitli kanser hücreleri fibronektin sentezlemedikleri için ESM'den kolayca ayrılırlar.

**Laminin** bazal lamina için özel olan bir adeziv moleküldür. Çeşitli fonksiyonel bölgeleri olan laminin uzun, esnek, birbirine asimetrik şekilde dolanmış üç polipeptitten ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) oluşan ve disülfid bağları ile bir arada tutulan glikoproteindir. Laminin epitel hücreleri tarafından üretilir. Çeşitli dokularda farklı izoformları bulunmuştur. Laminin yapısında beş çeşit  $\alpha$  zinciri, dört çeşit  $\beta$  zinciri ve üç tür  $\gamma$  zinciri bilinmektedir. Bu alt birimlerin çeşitli birleşimleri farklı lamininleri oluşturmak için bir araya gelir. Örneğin  $\alpha 1$ ,  $\beta 1$ ,  $\gamma 1$  alt üniteleri içeriyorsa laminin-111 olarak tanımlanır. Laminin molekülünün bir bölgesi hücre yüzey reseptörlerini bağlar, diğer bölgesi perlekana bağlanır ve diğeri tip IV kollajen ile ilişkilidir. Laminin tip IV kollajene bağlanan nidojen/entaktin ile de bağlantılıdır (Şekil 11). *In vivo* ESM çalışmaları zor olduğundan genellikle yapay matrisler kullanılarak kültür hücreleri üç boyutlu olarak çoğaltılmaktadır. Yapay ESM olan matrijeller kullanılarak yanık hastaları için deri parçaları, kalp kapakçıkları, trake, insan kulağının dış kısmı gibi organ taslakları doku mühendisliği çalışmaları ile yapılmaktadır.

Şekil 11. Laminin molekülü



## Ekstraselüler Proteazlar

Ekstraselüler matrisin yıkımı gelişim, büyüme ve doku onarımı

esnasında meydana gelir. Birçok biyolojik olay örneğin; embriyogenez esnasında yapı değişiklikleri, yara iyileşmesi, doğumdan sonra uterusun eski haline dönmesi, menstruasyon esnasında uterus endometriyumunun yıkılması ve implantasyon esnasında embriyonik trofoblast hücrelerinin uterus duvarına tutunması ekstraselüler matriksin kontrollü parçalanması ile gerçekleşir. Ekstraselüler matriks bileşenlerinin lokalize parçalanması hücreler bazal laminadan geçtiği zaman gereklidir. Bu olay özellikle enfeksiyon veya yaralanmaya cevap olarak lökositler doku içine göç ederken veya kanser hücreleri metastaz yaptığı zaman gerçekleşir. ESM, **matriks metalloprote(in)azlar (MMP'ler)** diğer adıyla matriksinler tarafından parçalanır. Malign tümörlerde MMP sentezinin normal dokuya oranla daha fazla olduğu saptanmıştır. Ekstraselüler matriksin hem fizyolojik hem de patolojik parçalanmasından sorumlu 24 homolog metalloproteaz bilinmektedir. Bazı MMP'ler örneğin, kollajenazlar belirli proteinleri parçalayan oldukça spesifik proteazlardır. Bu şekilde ESM'in büyük ölçüde yapısal bütünlüğü korunurken aynı zamanda az miktarda proteoliz ile hücre göçü oldukça kolaylaşır. Diğer bazı metalloproteazlar ise daha az spesifik olabilirler ve onlar hücre membranına bağlı olup ihtiyaç halinde aktifleşirler. ESM, büyüme faktörleri ve sitokinler ile proteolitik enzimlerin üretimini ve aktivasyonunu kontrol altında tutar. ESM bileşenlerini parçalayan proteazların kontrolü üç temel mekanizma ile sağlanır. 1-Lokal aktivasyon: Çoğu proteazlar ihtiyaç duyuldukları zaman aktifleşecek aktif olmayan öncüller olarak salgılanırlar. 2-Hücre yüzey reseptörleri ile sınırlama: Hücre yüzeyinde bulunan reseptörler proteazları bağlayarak enzimlerin gerek duyulan bölgede tutulmasını sağlarlar. 3-Salgı inhibitörleri: Çeşitli salgı inhibitörleri proteazlara spesifiktir ve aktif enzime bağlanarak onu bloke ederler.

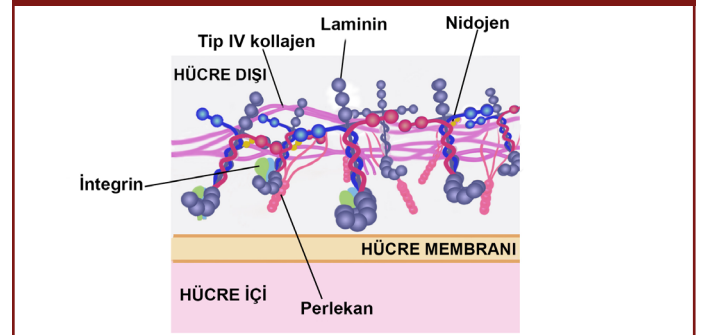
MMP'ler substratlarına göre alt gruplara ayrılır. **1-Kollajenazlar** (MMP-1, MMP-8 ve MMP-13) tip I, II ve III kollajenleri ve diğer ESM proteinleri parçalarlar. **2-Gelatinazlar** (MMP-2 ve MMP-9) tip IV, V ve XI kollajenleri, laminini ve çekirdek proteini parçalarlar. **3-Stromelisinler** (MMP-3 ve MMP-10) bazal membran bileşenlerinden tip IV kollajeni ve fibronektini parçalar. **4-Matrilisinler** (MMP-7 ve MMP-26). **5-Membran tipi MMP'ler**, transmembran proteinler [MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-24] ve glikozilfosfatidilinositol (GPI)-bağlı proteinler (MMP-17 ve MMP-25) olarak ikiye ayrılır. MMP'lerin ekspresyonları inflamatuvar sitokinler, büyüme faktörleri, hormonlar, hücre-hücre ve hücre-matriks ilişkisi ile düzenlenebilir. MMP'lerin ekstraselüler alandaki aktivitesi, doku inhibitör MMP'leri olan **TIMP'ler** (TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 ve TIMP-4) ile dengelenir.

### Bazal Yüzey Farklılaşmaları

Epitel hücrelerinin bazal bölgelerinde hücre membranının hemen altında kesintisiz devam eden ince bir ekstraselüler matriks tabakası olarak bulunan yapıya bazal lamina veya bazal membran adı verilir. Bazal membran çeşitli kollajenler özellikle tip IV kollajen, laminin, fibronektin ve heparan sülfat proteoglikan gibi ESM bileşenleri içerir. Bazal lamina kas, yağ ve Schwann hücrelerini de çevreler. Bazal lamina çevrelediği hücrelerin ve epitelin bağ dokudan ayrılmasını sağlar. Çizgili kas hücrelerini saran bazal lamina, hücreleri bağ dokudan ayırır. Böbrek glomerülüsü ve akciğer alveollerinde bazal lamina iki hücre tabakası arasında yüksek seçici filtre görevi görür. Böbrek glomerülündeki kalın bazal lamina idrar oluşumu sırasında kandaki makromoleküllerin glomerüler

filtrata geçişini engelleyerek idrarla atılmalarını önler. Ekstraselüler matriks bileşenlerinin ağ şeklinde oluşturduğu bazal lamina tabakası 40-120 nm kalınlıktadır. Bazal laminayı ışık mikroskop ile ayırt etmek zordur. Fakat çok kalın bazal lamina ışık mikroskop ile Periyodik Asit Schiff (PAS) ve gümüşleme boya ile görülür. Bazal laminanın elektron mikrograflarda lamina lucida ve lamina densa olmak üzere iki bölgeden oluştuğu kabul edilirdi. Fakat EM tekniklerinin gelişmesiyle lamina lucida adı verilen tabaka fiksasyon artefaktı olarak kabul edilmekte ve bazal lamina tek bir katman yani lamina densa olarak görülmektedir. Epitel veya epitel olmayan hücreler ESM bileşenleri için reseptör içerirler. Bazal laminanın moleküler yapısı tip IV kollajen, ekstraselüler glikoproteinler olan laminin ve entaktin/nidojen, transmembran laminin reseptörleri olarak integrinler ve distroglikanları içerir (Şekil 12).

Şekil 12. Bazal lamina yapısı



Laminin ve tip IV kollajen nidojen aracılığı ile bağlantı kurar. Bir heparan sülfat proteoglikan olan perlekan ile tip IV kollajen ağ bağlantılıdır. Komşu hücrenin plazma membranına perlekan, glikoprotein yapıdaki nidojen/entaktin molekülleri aracılığı ile bağlanan laminin ve tip IV kollajen içeren kollajen tabaka bazal laminanın ana bileşenleridir. Bazal laminanın önemli fonksiyonları epitel hücrelerine fiziksel destek sağlamak ve bağ dokusu ile diğer hücreler arasında protein ağ yapısı nedeniyle seçici bir bariyer oluşturmaktır. Bazal lamina hücre polaritesini belirleyip hücre metabolizmasını etkiler. Ayrıca hücrenin canlılığı, çoğalması, farklılaşması ve göçünü kontrol eder. Örneğin, tip IV kollajen nedeniyle çap değişikliği gereken yerlerde gerilip büzülme sağlar. Embriyonik gelişimde mikro çevre oluşturulmasında 4 veya 8 hücreli embriyonun bir arada tutulmasında ve hücre göçünde rol oynar. Bazal lamina yapısında proteoglikanlar değişen por büyüklükleri ve yük dağılımları ile seçici moleküler filtre rolü görürler. Bazal lamina postnatal yaşamda epitel tamarine katkıda bulunur. İlk yara iyileşmesinde tip III kollajen oluşumu daha sonraki yara iyileşmelerinde ise tip I kollajen iş görür. Sinaps bölgesinde kas hücrelerinin etrafını saran bazal lamina sinir ve kas hücre membranlarını ayırır. Sinaptik bölge laminası; tip IV kollajenin özel formları, laminin ve agrin olarak adlandırılan heparan sülfat proteoglikan ile farklı bir kimyasal yapı oluşturur. Sinapsda bu bazal lamina sinir ve kas hasarından sonra yeniden sinaps oluşturmada rol oynar.

### ESM ve Bazal Lamina ile İlişkili Hastalıklar

Dermatan sülfat disakkarit sentezinde ciddi bir eksiklik olursa bireyler genellikle eklem, kas, deri ve kemiklerinde görülen bozukluklar ile kısa boy ve erken yaşlanmış görünüme sahiptirler. Plazma membran HSPG'ları integrin ve diğer hücre adezyon reseptörleri ile bağlanarak hücre-hücre bağlantılarını, hücre-ESM

bağlanmasını ve hücre hareketliliğini kontrol ederler. Örneğin, hücre yüzey HSPG'ı olan sindekan-1 geni nakavt (knockout) farelerde bağışıklık sisteminde ve yara iyileşme cevabında ciddi azalma saptanmıştır. Hemidesmozom bağlantıları epitel hücrelerini bazal laminaya bağlayarak epitel hücrelerine mekanik destek sağlarlar. Integrinlerin ekstraselüler kısmı bazal lamina yapısındaki laminin proteinine bağlanır. Hemidesmozomun sitoplazmaya bakan kısmında keratin ara filamentlerinin bağlandığı sitoplazmik plak bulunur. Bazal lamina proteinlerinde veya keratin tiplerinde görülen genetik bozukluklar **epidermolizis büllöza** adı verilen bazen ölümcül olabilen kabarcıklı deri hastalığına neden olur. Kollajen yapısında amino asitlerin hidroksil gruplarının üç iplikli sarmalı sağlamlaştırdığı kabul edilir. Prolin amino asidinin hidroksilasyonu vitamin C varlığını gerektirir. Vitamin C eksikliği ile oluşan **skorbüt** hastalığında hatalı sentez edilen pro- $\alpha$ -zincirler hücre içinde üçlü sarmalı oluşturamadan parçalanırlar. Bunun sonucu matriksde çok fazla mevcut olan kollajenin kaybı ile kan damarları aşırı inceler ve dişler diş etlerinden ayrılır. Çeşitli genetik hatalar ve otoimmün hastalıklar bazal lamina bozukluklarına neden olur. Örneğin; glomerüler bazal membran ve akciğerlerde nadir görülen otoimmün hastalık **Goodpasture sendromunda** otoantikörler tip IV kollajenin dokuya spesifik olan  $\alpha 3$  zincirlerine bağlanırlar. ESM'nin parçalanması normal şartlarda gelişme, büyüme, doku onarımı ve yara iyileşmesi sırasında meydana gelir. Ekstraselüler matriksin kontrolsüz parçalanması örneğin, inflamasyon, kronik doku ülserleri, romatit artrit, osteoartrit, deri hastalıkları ve tümör gelişiminde önemlidir. Tümör invazyonu, metastazı ve tümör anjiyogenezi gibi tümör oluşumunda MMP'lerin ekspresyonu artar.

**Osteogenesis imperfecta (OI)** 1/10.000 sıklıkta görülür, klinik ve genetik olarak farklı bir grup hastalığı içerir. Tip I kollajen iki adet  $\alpha 1$  ve bir adet  $\alpha 2$  zinciri ile üçlü sarmal yapıdadır. Tip I kollajen mutasyonları otozomal dominant kalıtılan OI nedenidir. Mutasyon tip I kollajen yapısını etkiliyorsa hafif tip I OI fenotipi olarak tip 1 kollajen üretimindeki azalma (~%50) ile kolay kırılan kemikler oluşur. Eğer mutasyon molekülün yapısını değiştiriyorsa yani anormal tip I kollajen molekülleri sonucu tip II, III ve IV OI fenotipi görülür. Tip II kollajeni etkileyen mutasyonlar, kemik ve bağlantı deformasyonlarına yol açan anormal kırık ile karakterize olan kondroplaziye neden olur. **Ehlers-Danlos (ED)** tip VI sendromu aşırı eklem hareketliliği, aşırı deri elastikiyeti ve deri frajilitesi gösteren bağ doku hastalığıdır. Bu hastalıkta izin kalıntılarını hidroksilleyen enzim lizil hidroksilaz eksikliğinden kollajen I ve III'ün transasyon sonrası modifikasyonu bozulmuştur. ED sendromunda kollajen molekülleri arasında anormal bağlanma meydana gelir. Anormal kollajen liflerine sahip bireylerde aşırı hareketli eklemler ve derinin aşırı uzaması görülür. ED sendromunun alt tipleri kollajen genlerindeki mutasyonlar ve şiddet derecelerine göre tanımlanır. Örneğin, kollajen III  $\alpha 1$  genindeki bir mutasyon ile oluşan tip IV ED sendromunda ana arterlerin kendiliğinden yırtılması, genişlemiş venler ve ciddi damar değişiklikleri söz konusudur.

**Marfan sendromu** fibrillin-1 gen mutasyonu ile otozomal dominant kalıtım gösterir. Fibrillin-1 özellikle aort ve deride bol miktarda bulunan tropoelastinin bir bileşenidir. Marfan sendromunda uzun kol ve bacaklar, zayıflamış aort, uzun parmaklar, çökmüş göğüs kafesi ve lens çıkıklığı elastik bağ doku proteini olan fibrillin azlığındandır. Aort anevrizması Marfan sendromunda görülür. Aort anevrizması,  $\alpha 1$  geninde glisin yerine arginin yanlış eşleşme mutasyonu ile oluşan ciddi bir bağ doku hastalığıdır. Böbrek rahat-

sızlığı olan **Alport sendromunun** oluşumunda tip IV kollajenin  $\alpha 5$  genlerindeki mutasyonlar rol oynar. <sup>20-26</sup>

### Klinik Önemi

Bağırsak mukozasında kontrol edilemeyen sitokin sinyalleri sıkı bağlantılardan antijen geçişini artırarak kronik inflamatuvar bağırsak hastalıklarına neden olur.

Desmoplakin gen mutasyonu sonucu aritmojenik sağ ventrikül kardiyomyopatisi görülür.

Büllöz pemfigoid hemidesmozom hastalığında otoantikörler tip XVII kollajene bağlanır.

Konneksin-26/ $\beta 2$  genindeki resesif mutasyonlar insanda kalıtsal sağırlığın en yaygın nedenidir.

Ekstraselüler matriksin kontrolsüz parçalanması örneğin; inflamasyon, kronik doku ülserleri, romatit artrit, osteoartrit, deri hastalıkları ve tümör gelişiminde önemlidir.

Tip I kollajen mutasyonları osteogenezis imperfecta nedenidir.

Goodpasture sendromunda otoantikörler tip IV kollajenin  $\alpha 3$  zincirlerine bağlanırlar.

Kollajen III  $\alpha 1$  genindeki bir mutasyon ile tip IV Ehlers-Danlos sendromu oluşur.

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Declaration of Interests:** The author declares that she has no competing interest.

### Kaynaklar

1. Ulutin T, Onaran İ, Güven M. Eds. *Tıbbi Biyoloji Ders Kitabı 3*. bs. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul; 2017, 75-97.
2. Pollard TD, Earnshaw WC, Lippincott-Schwartz J, Johnson GT. *Cell Biology*. 3<sup>rd</sup> Ed. Philadelphia, Elsevier, 2017.
3. Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach*. 8<sup>th</sup> Ed. New York, Sinauer Associates, 2019.
4. Hardin J, Bertoni G. *Becker's World of the Cell*. 9<sup>th</sup> Ed. England, Pearson Education Limited, 2018.
5. Lodish H, Berk A, Kaiser C, et al. *Molecular Cell Biology*. 9<sup>th</sup> Ed. Macmillan Learning, 2021.
6. Otani T, Furuse M. Tight Junction Structure and Function Revisited. *Trends Cell Biol*. 2020;30(10): 805-17. [\[Crossref\]](#)
7. Suzuki T. Regulation of the Intestinal Barrier by Nutrients: The Role of Tight Junctions. *Anim Sci J* 2020;91(11): e13357. [\[Crossref\]](#)
8. Profaci CP, Munji RN, Pulido RS, Daneman R. The Blood-Brain Barrier in Health and Disease: Important Unanswered Questions. *J Exp Med*. 2020;217(4): e20190062. [\[Crossref\]](#)
9. Sharif Y, Jumah F, Coplan L, Krosser A, Sharif K, Tubbs RS. Blood Brain Barrier: A Review of its Anatomy and Physiology in Health and Disease. *Clin Anat*. 2018;31(6): 812-23.

10. Campbell HK, Maiers JL, DeMali KA. Interplay between Tight Junctions & Adherens Junctions. *Exp Cell Res*. 2017;358(1): 39-44. [\[Crossref\]](#)
11. Zhu L, Han J, Li L, Wang Y, Li Y, Zhang S. Claudin Family Participates in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases and Colitis-Associated Colorectal Cancer. *Front Immunol*. 2019;10: 1441. [\[Crossref\]](#)
12. Hatzfeld M, Keil R, Magin TM. Desmosomes and Intermediate Filaments: Their Consequences for Tissue Mechanics. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2017; 9(6): a029157. [\[Crossref\]](#)
13. Johnson JL, Najor NA, Green KJ. Desmosomes: Regulators of Cellular Signaling and Adhesion in Epidermal Health and Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014;4(11): A015297. [\[Crossref\]](#)
14. Moch M, Leube RE. Hemidesmosome-Related Keratin Filament Bundling and Nucleation. *Int J Mol Sci*. 2021;22(4): 2130. [\[Crossref\]](#)
15. Makarenkova HP, Shah SB, Shestopalov VI. The Two Faces of Pannexins: New Roles in Inflammation and Repair. *J Inflamm Res*. 2018;11: 273-88. [\[Crossref\]](#)
16. Beckmann A, Hainz N, Tschernig T, Meier C. Facets of Communication: Gap Junction Ultrastructure and Function in Cancer Stem Cells and Tumor Cells. *Cancers (Basel)*. 2019;11(3): 288. [\[Crossref\]](#)
17. Beyer EC, Berthoud VM. Gap Junction Gene and Protein Families: Connexins, Innexins, and Pannexins. *Biochim Biophys Acta Biomembr*. 2018;1860(1): 5-8. [\[Crossref\]](#)
18. Leybaert L, Lampe PD, Dhein S, et al. Connexins in Cardiovascular and Neurovascular Health and Disease: Pharmacological Implications. *Pharmacol Rev*. 2017;69(4): 396-478. [\[Crossref\]](#)
19. Peracchia C. Connexin/Innexin Channels in Cytoplasmic Organelles. Are There Intracellular Gap Junctions? A Hypothesis! *Int J Mol Sci*. 2020;21(6): 2163. [\[Crossref\]](#)
20. Alberts B, Heald R, Johnson A, et al. *Molecular Biology of the Cell*. 7<sup>th</sup> Ed. New York: W. W. Norton & Company, 2022.
21. Wang B, Qinglai T, Yang Q, et al. Functional Acellular Matrix for Tissue Repair. *Mater Today Bio*. 2022;28;18:100530. [\[Crossref\]](#)
22. Goodman, SR. Ed. Goodman's *Medical Cell Biology*. 4<sup>th</sup> Ed. USA, Elsevier, 2021.
23. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. *Thompson & Thompson. Genetics in Medicine*. 8<sup>th</sup> Ed. Elsevier Inc. 2016.
24. Theocharis AD, Manou D, Karamanos NK. The Extracellular Matrix As A Multitasking Player in Disease. *FEBS J* 2019;286(15): 2830-69. [\[Crossref\]](#)
25. Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, et al. The Roles of Matrix Metalloproteinases and their Inhibitors in Human Diseases. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(24):9739. [\[Crossref\]](#)
26. Sekiguchi R, Yamada KM. Basement Membranes in Development and Disease. *Curr Top Dev Biol*. 2018;130:143-91. [\[Crossref\]](#)

# **BÖLÜM 10**

# **HÜCRE SİNYAL İLETİMİ**

# Hücre Sinyal İletimi

## Cell Signal Transduction

### BÖLÜM HAKKINDA

Hücre sinyal iletimi ya doğrudan temasdaki hücre-hücre sinyalleşmesi ile veya salgılanan moleküller aracılığıyla endokrin, parakrin ve otokrin yollarla gerçekleşir. Hücre yüzey reseptörleri iyon kanalına bağlı reseptörler, G proteine bağlı reseptör (GPCR)'ler ve enzime bağlı reseptörler olarak üç ana sınıfa ayrılır. GPCR'ler hücre membranına bağlı ya adenilil siklaz ya da bir iyon kanalının aktivitesini düzenler. Kullanılan ilaçların ~ %35'i GPCR'lere agonist veya antagonisttir. Reseptör tirozin kinazlar (RTK'lar) substrat proteinlerini tirozin amino asitinden fosforiller. RTK'lar hücre çoğalması, apoptoz ve hücre göçünün düzenlenmesinde iş görürler. Tirozin kinazlar ve sitokin reseptörleri Ras/MAP kinaz yolunu aktive eder. Tüm kanserlerin %25'inde mutant Ras onkogenleri görülür. Hücre içinde çok kompleks olan çeşitli sinyal yollarının karşılıklı etkileşimi ile sinyal ağı oluşur.

**Anahtar kelimeler:** Sinyal iletimi, hücre yüzey reseptörleri, hücre içi reseptörler, sinyal ağı

### ABOUT the CHAPTER

Cell signaling takes place via cell-cell signaling in direct contact or via secreted molecules in endocrine, paracrine and autocrine pathways. Cell surface receptors are divided into three main classes: ion channel-linked receptors, G protein-coupled receptors (GPCRs), and enzyme-linked receptors. GPCRs regulate the activity of either adenylyl cyclase or an ion channel attached to the cell membrane. ~35% of the drugs used are agonists or antagonists to GPCRs. Receptor tyrosine kinases (RTKs) phosphorylate their substrate proteins from the amino acid tyrosine. RTKs are involved in the regulation of cell proliferation, apoptosis, and migration. Tyrosine kinases and cytokine receptors activate the Ras/MAP kinase pathway. Mutant Ras oncogenes are seen in 25% of all cancers. The signal network is formed by the mutual interaction of various signaling pathways, which are very complex inside the cell.

**Keywords:** Signal transduction, cell surface receptors, intracellular receptors, signal network



Çok hücreli organizmanın hücreleri birbirleriyle iletişim kurmak için yüzlerce çeşit *sinyal molekülü* örneğin; proteinler, steroidler, nükleotitler ve çözünmüş gazları kullanır. Çoğu hayvan hücresi hem sinyal gönderip hem de aldığı için hem sinyal hücresi hem de hedef hücre olarak rol oynar. Hücre sinyal iletimi ya doğrudan hücre-hücre sinyalleşmesi veya salgılanan moleküller ile gerçekleşir.

*Salgılanan moleküller ile sinyalleşme* yolları esas olarak üçe ayrılır. Endokrin bezlerde üretilen *hormonlar* kan dolaşımı ile hedef hücrelerine ulaşırsa **endokrin yol** ile sinyal iletimi sağlanır. Örneğin, ovaryumda üretilen ve üreme işlevinden sorumlu steroid östrojen hormonu hayvan ve insanlarda üretilen elliden fazla hormondan biridir. **Parakrin yol** ile sinyal molekülleri bölgesel olarak ekstraselüler sıvı aracılığı ile yakın hedef hücrelere ulaşır. Örneğin, nitrik oksit gazı sinir sisteminde bir parakrin sinyal molekülüdür. Parakrin sinyalin özel bir şekli olan **sinaptik yol** ile elektriksel sinyaller nöron aksonları boyunca iletilir ve uzak mesafedeki hedef hücre ile sinaps yaptığı aralığa nörotransmitterlerin salınmasına neden olur. **Otokrin yol** ile hücreler, kendi ürettikleri sinyallerle hayatta kalma ve çoğalmalarını kontrol ederler. Örneğin, kanser hücresi yanıt verdiği bir büyüme faktörü üreterek kendi düzensiz çoğalmasını otokrin yol ile sürdürebilir. Aynı sinyal molekülü örneğin; asetilkolin beş, serotonin on beş farklı reseptörü aktive edebilir ve farklı hedef hücrelerde farklı cevaplar oluşturabilir.

İnsan genlerinin yaklaşık 1/5'inin sinyal iletiminde görev alması hücrelerin çeşitli fonksiyonlarını gerçekleştirmesinde ne kadar önemli olduğunu gösterir. Sinyal molekülü yani **ligand** uyarıyı oluşturan hücre tarafından üretilir. Ligand, çoğunlukla hedef hücrenin



membranında, sitoplazmasında veya nükleus membranında yer alan **reseptör** (alıcı) denen bir proteine bağlanarak etkisini gösterir. Bir sinyal molekülü reseptörüne bağlandığı zaman hücre içi reaksiyon zincirini örneğin; farklılaşma, hücre çoğalması, hareket ve metabolizma gibi fonksiyonları başlatır. Reseptörler *ligand bağlanma* ve *efektör* bölgeleri olarak iki kısım içerirler. Hücreler aynı liganda farklı efektör domain kısımları ile farklı reseptörler eksprese edebilirler. Çeşitli sinyal yolları arasında belirgin farklılıklar olmasına rağmen ortak özellikleri ligandlar, reseptörler, hücre içi sinyal domainleri, adaptör ve efektör moleküller içermeleridir. Sinyal yolları bir hücrenin kaderinin değerine göre korunmasında ve sürdürülmesinde iş görürler.

Ekstraselüler sinyal molekülleri plazma membranında bulunan *hücre yüzey reseptörüne* bağlanarak hedef hücrede bir veya daha fazla hücre içi sinyal molekülü oluştururlar. Küçük hidrofobik ekstraselüler sinyal molekülü plazma membranını geçerek hedef hücrenin sitozol veya nükleusundaki *hücre içi reseptörüne* bağlanarak gen transkripsiyonunu veya protein fonksiyonlarını düzenler. Protein kinazlar ve fosfatazlar hemen hemen tüm sinyal iletim yollarında iş görürler. Çoğu hücre içi sinyal proteini bir fosfat grubu ile aktifleşir. Örneğin; ATP'den gelen fosfatı sinyal proteinine transfer eden *protein kinaz* ile protein genellikle aktifleşirken, *protein fosfataz* ile fosfat grubunu kaybeder veya GTP bağlayıcı protein ile sinyal molekülü aktifleşirken GTP hidrolizi ile aktivitesini kaybeder.

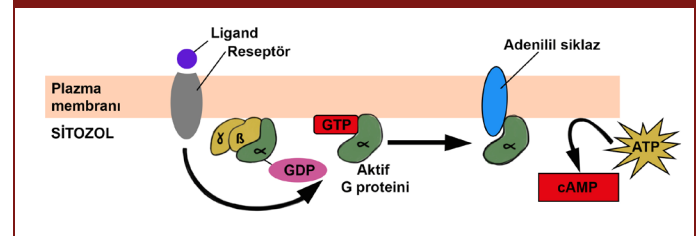
Başlıca **hücre içi sinyal yolları** olarak cAMP ve siklik guanozin monofosfat (cGMP) yolları, fosfolipaz C-Ca<sup>2+</sup> yolu, nükleer faktör-kappa beta (NF-κβ) transkripsiyon faktör yolu, Ca<sup>2+</sup>-kalmodulin yolu, mitojenle aktiflenen protein (MAP) kinaz yolu, Janus kinaz-sinyal iletimi ve transkripsiyon aktivatörleri (JAK-STAT) yolu sayılabilir. Çoğu reseptör ligand bağlanmasından sonra hücre içinde enzimler aktifleşerek sinyali iletirler. **cAMP yolu:** Adenilil siklaz ile ATP'den oluşan cAMP genellikle protein kinaz A'nın yapısında değişikliğe yol açarak onu aktifleştirir ve serbestleşen katalitik alt ünitesi nükleusa geçerek CRE bağlayıcı protein olan CREB transkripsiyon faktörünü fosforilleyerek gen ekspresyonuna neden olur. **cGMP yolu:** cGMP üretmek için guanilat siklaz kullanır. Retina fotoreseptörleri ışık sinyallerini sinir impulslarına dönüştürmek için cGMP kullanırlar. **Fosfolipaz C-Ca<sup>2+</sup> yolu:** Birçok hormon hücre yüzey reseptörleri ile etkileşime girdiğinde, sitozolik Ca<sup>2+</sup> konsantrasyonunda bir artış olur. Ligand reseptör ile birleşince membranda bulunan G proteini, yine membranda yer alan fosfolipaz C ile birleşerek enzimi aktifleştirir. Aktifleşen fosfolipaz C, fosfatidil inozitol 4,5-bisfosfat (PIP<sub>2</sub>)'i hidrolize ederek *inozitol trifosfat (IP3)* ve *1,2-diacylglicerol (DAG)* denen iki hücre içi ikinci habercinin oluşmasını sağlar. IP3 kalsiyum iyonlarının endoplazmik retikulumdan salınmasını sağlar. DAG protein kinaz C'yi aktifleştirir. **NF-κβ transkripsiyon faktör yolu:** NF-κβ aktivasyonuna yol açan tümör nekroz faktör (TNF) reseptörünün ligandı ile birleşmesiyle gerçekleşir. Virüs ve bakterilerle ilişkili molekülleri tanıyan Toll-benzeri reseptör veya TNF reseptör aktivasyonu, adaptör proteinler ile IκB kinazı aktifleştirir. Sitozolde NF-κβ ile birlikte duran IκB'nin fosforilasyonu ve proteazomla parçalanması sonucu NF-κβ nükleusa geçerek hedef genlerin transkripsiyonunu gerçekleştirir. Beş transkripsiyon faktörü içeren NF-κβ ailesi immün sistem, hayatta kalma ve çoğalma fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli rol oynar. **Ca<sup>2+</sup>-kalmodulin yolu:** Kalsiyum bağımlı protein kalmodulin ile hücre dışı veya hücre içi depolardan salınımla kalsiyum kon-

santrasyonu düzenlenir.

Büyüme faktörleri veya peptit hormonlar hücre yüzey reseptörüne bağlandıktan sonra hücre içi hedeflerini aktifleştirirler. **Hücre yüzey reseptörleri** iyon kanalına bağlı reseptörler, G proteine bağlı reseptörler ve enzime bağlı reseptörler olarak üç ana sınıfa ayrılır. **İyon kanalına bağlı reseptörler (transmitter kapılı iyon kanalları)**, nöronlar veya nöron ile kas hücreleri arasında uyarı iletilmesini sağlayan hidrofobik moleküller olan nörotransmitterlerin hedef hücre yüzeyindeki reseptörüne bağlanması ile iyon kanalı geçici olarak açılır veya kapanır. İyon kanalına bağlı reseptörler ile kimyasal sinyaller elektriksel sinyallere dönüşür.

İnsanda 800'den fazla sayıda (~400 koku alma reseptörü) bulunan **G proteine bağlı reseptör (GPCR)**'ler hücre membranına bağlı ya cAMP oluşumundan sorumlu adenilil siklazı veya bir iyon kanalının aktivitesini düzenler. Reseptör ile hedef protein arasındaki bağlantı hücre membranının iç kısmında yer alan G protein ailesinin 1000'den fazla sayıdaki üyesi aracılığı ile sağlanır. Hücre yüzey reseptörünün ekstraselüler kısmına bir sinyal molekülü veya reseptör ligandı bağlandığı zaman onun sitozolik domaini G proteinini bağlayabilen yapısal bir değişikliğe uğrar. Bu da G proteinini aktifleştirir. GPCR'ler α, β ve γ alt ünitelerine sahip G proteinlerine bağlanır. α alt birimi G protein aktivitesini düzenler. Dinlenme durumunda guanozin difosfat (GDP) β, γ alt üniteleri ile kompleks halinde α alt ünitesine bağlıdır. Ligand bağlanması GDP salınmasını uyarır ve GTP oluşur. Aktifleşen GTP bağlı α alt ünitesi, β ve γ alt ünitelerinden ayrılıp cevap başlatmak üzere hedefle etkileşir. Hedef protein aktifleşince hücre içi *ikinci haberci molekülleri* örneğin; çeşitli hormonların hücrel cevaplarına aracılık eden cAMP ve Ca<sup>2+</sup> konsantrasyonu veya hücre membranının iyon geçirgenliği değişir (Şekil 1).

Şekil 1. G proteinin rolü

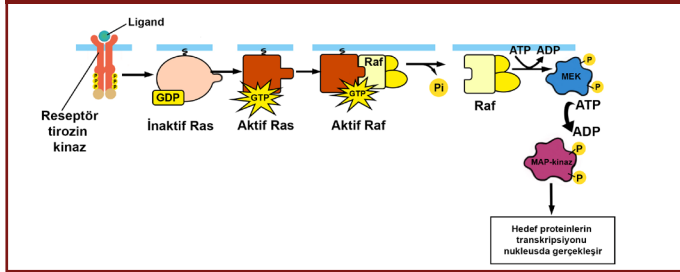


**Fosfatidilinositol (PI) 3-kinaz/Akt ve mTOR yolları** G proteinleri ile uyarılan tirozin kinazların hücre içi sinyalleşme yollarından biridir. Plazma membranı fosfolipidinden kaynaklanan PIP<sub>2</sub>'nin PI3-kinaz ile fosforilasyonu ikinci haberci olan fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfat (PIP<sub>3</sub>) aracılığı ile serin/treonin kinaz olarak adlandırılan **Akt** (protein kinaz B) aktivasyonuna yol açar. Akt, hücrenin hayatta kalma ve çoğalmasını düzenleyen çeşitli proteinleri fosforiller. Akt aktivitesini önleyen bir fosfataz olan PTEN (tümör baskılayıcı gen) PIP<sub>3</sub> oluşumunu inhibe eder. İnsan kanserlerinin %30'unda PI<sub>3</sub>-kinaz yolunda mutasyon vardır. PI<sub>3</sub>-kinaz yolu ile fosforile olan mTOR (**mammalian Target Of Rapamycin**), Akt sinyaline cevap olarak protein sentezi ve otofajiyi düzenler. mTORC1 kompleksine özel bir inhibitör olan *rapamisin* antibiyotığı organ nakillerinde immün baskılayıcı bir ilaç olarak kullanılır. İnsanlarda kullanılan *ilaçların* ~%35'i GPCR'lere *agonist veya antagonisttir*. Örneğin, histamin ligandının histamin H1 reseptör antagonisti olan loratadin gibi ilaçlar alerjik septomları önlemede kullanılır.

**Enzime bağlı reseptörler**, ligand bağlanan kısımları hücre di-

sında, katalitik kısımları hücre içinde yer alan çoğunlukla transmembran proteinlerdir. Bu reseptörler ya bir enzim gibi davranan protein kinaz veya hücre içindeki diğer protein kinazlar ile bağlantı kurarlar. Hücre içi enzimlerle bağlantılı *reseptör tirozin kinazlar* (RTK'lar) substrat proteinlerini tirozin amino asitinden fosforiller. RTK'lar *hücre dışı* sinyallerin sitoplazmaya iletilmesini sağlarlar. RTK'lar hücre çoğalması, apoptoz ve hücre göçünün düzenlenmesinde iş görürler. RTK'lar genelde tek bir polipeptitten oluşmasına rağmen insülin reseptörü iki polipeptit zincirinden oluşur. Tirozin kinaz reseptörlerinin ligandları olan büyüme faktörleri örneğin; epidermal büyüme faktörü (EGF) veya platelet (trombosit) kökenli büyüme faktörü (PDGF), sinir büyüme faktörü (NGF) ve insüline benzer büyüme faktörü-1 (IGF-1) ile bağlanması reseptör dimerizasyonunu indükler ve sonuçta transfosforilasyona yol açar. *Tirozin kinazlar ve sitokin reseptörleri Ras* (GTP-bağlayan protein) /MAP-kinaz yolunu aktifleştirir. Büyüme faktörünün RTK'a bağlanması, Ras guanin nükleotit değişim faktörü (GEF)'nin adaptör protein domaini SH2 ile bağlanmasına neden olur. GEF, GDP'nin GTP'ye değişimini uyararak aktif Ras-GTP kompleksini oluşturur. GTPaz süper ailesine ait Ras proteini, küçük bir G proteini olup diğer G proteinleri gibi hücre yüzey proteinlerine doğrudan bağlı değildir. Büyüme faktörünün reseptörü uyarması ile aktifleşen **Ras**, **Raf** protein kinaza (serin/treonin kinaz) bağlanarak onu aktifleştirir. Raf'da diğer bir protein kinaz olan **MEK kinazı** (mitojen aktif protein kinaz), MEK kinaz'da MAP-kinaz yani **ERK** (ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz) tirozin/treonin kalıntılarını fosforile ederek aktifleştirir. MAP-kinaz'da nükleus ve sitozolde hedef proteinleri fosforile ederek, hücresel cevaba yol açar. Örneğin, aktifleşen ERK nükleusa geçtiğinde acil erken genler olarak adlandırılan ~100 genin hızlı transkripsiyonunu uyararak gen ekspresyonunu değiştirir. Memeli hücrelerinde bulunan çeşitli MAP kinazlardan hücresel stres cevabında etkili olan JNK ve p38 MAP kinazlardır. MAP-kinaz/JNK yolağı inflamasyon, apoptoz, farklılaşma ve hayatta kalma, p38 ise apoptoz ve inflamasyon cevabında iş görür (Şekil 2).

Şekil 2. Ras-MAP-kinaz yolu



*Mutant Ras proteinleri* GTP'den ayrılmadığından sürekli aktif halde kalırlar. Bundan dolayı büyüme faktörleri yokluğunda bile onkogenik Ras proteinleri ERK sinyal yolunu uyararak hücre çoğalmasını arttırabilirler. Mutant Ras onkogenleri, pankreas kanserlerinin %90'dan fazlasında ve tüm kanserlerin ise %25'inde görülür. *RTK'ların aşırı aktivasyonu* kontrolsüz büyüme ve tümör oluşumuna neden olabilir. Tirozin kinaz aktivitesi *imatinib mesylate* (glivec) ile inhibe edilebilir. Örneğin; gastrointestinal stromal tümörler, kronik myeloid lösemi, myelomonositik lösemi, kronik sistemik mastositoz tedavisinde imatinib kullanılır. Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptör- 3 (VEGFR-3) kinaz domainindeki mutasyon otozomal dominant kalıtılan lenfatik bozukluk olan *Milroy hastalığı*nda ortaya çıkar.

*Reseptör olmayan tirozin kinazlar* kovalent olmayan bağlarla bağ-

landıkları hücre içi protein-tirozin kinazları uyararak *hücre içi* sinyal iletiminde iş görürler. Bu reseptör olmayan tirozin kinazlar, sitokin reseptör süperailisi üyelerini içerir. *Sitokin reseptörler*, hücre içi protein tirozin kinazları uyarırlar. Sitokin reseptör ile ilişkili tirozin kinazlar Src ailesi ve Janus kinaz ailesi olarak ikiye ayrılır. Sitokin reseptörlerinin sitozolik alanları herhangi bir katalitik aktiviteden yoksundur. Sitoplazmik tirozin kinazlar olan JAK'lar gen ekspresyonundaki değişikliklere aracılık etmek için spesifik sitokin ligandlarına bağlanırlar. Tüm sitokin reseptörler JAK-STAT yolunun bir veya daha fazla üyesi ile ilişkilidir. Fosforile olan STAT proteinleri hedef genlerin transkripsiyonu için nükleusa geçerler.

Diğer enzimlerle bağlantılı reseptörler, *protein tirozin fosfatazlar*, *protein serin ve treonin kinazlar*dır. Bu reseptörler tirozin fosforilasyonu ile başlatılan sinyalleri durdurarak protein tirozin kinazların etkisini düzenler. **Dönüştürücü** (transforming) **büyüme faktör-beta** (TGF- $\beta$ ) ailesi serin ve treonin kalıntılarını fosforilleyen protein kinazlardır. Tirozin kinaz ve sitokin reseptörleri gibi TGF- $\beta$  reseptörüne ligand bağlanması reseptör dimerizasyonu ve karşılıklı fosforilasyon oluşmasına neden olur. TGF- $\beta$  reseptör aktivasyonu, Smad ailesine ait transkripsiyon faktörlerini fosforilleyerek nükleusa geçmesine ve hedef genlerin transkripsiyonuna neden olur. TGF- $\beta$ 'nın insanda 30 farklı çeşidi farklı cevapların oluşmasına genellikle de hedef hücre çoğalmasının durdurulmasına neden olurlar.

## Hücre İçi Reseptörler

Yapı taşı kolesterol olan steroid hormonlar, hücre membranını difüzyonla geçerek hücre içinde bir transkripsiyon faktörü olan reseptör ile kompleks oluştururlar. Nükleus reseptörleri, cevap elamanları olarak bilinen farklı kısa DNA dizilerine bağlanarak transkripsiyonu düzenlemede aktifleştirici veya baskılayıcı rol oynarlar. Bu şekilde steroid hormonlar veya ilişkili moleküller gen ekspresyonunu düzenlerler. *Androjen duyarsızlık sendromu*, testosteron reseptörünü ekspresye eden gendeki bir mutasyon sonucu hormon reseptöre bağlanamadığı için hücreler hormona cevap veremez. Genetik olarak erkek olan bireyde dişi sekonder seks karakterleri gelişir. Hücre içi reseptöre sahip, yapısal ve fonksiyonel olarak steroidlerden farklı üç sinyal molekülü vardır. Bunlar hücre membranını difüzyonla geçerek hücre içi reseptörlerine bağlanarak hedef hücreleri üzerine etki ederler. Bu sinyal molekülleri gelişim ve metabolizmayı düzenleyen *tiroid hormonu*, kalsiyum metabolizmasını ve kemik gelişimini düzenleyen *vitamin D3* ve gelişimi düzenleyen *retinoidler*dir.

Hücre tiplerinin *farklılaşması* çeşitli *moleküler sinyal yolları* ile düzenlenir. Hücreler arası haberleşme, hücre diğer hücrelerle ilişkisini ya doğrudan **gap bağlantı**larla veya **adezyon molekülleri** ile dolaylı olarak gerçekleştirir. Ovaryum foliküllerinin normal gelişimi sırasında gap bağlantılar önemli rol oynarlar. Oosit ve granülosa hücreleri arasında ileti aktarımı gap bağlantılarıyla olur. Konneksin 37 proteinini kodlayan gendeki bir mutasyon kısırlığa neden olmaktadır. Adezyon moleküllerinden kaderinler tümörlerin invazyonu ve büyümesinin baskılanması gibi hücresel büyüme ve göç olaylarını etkiler.

**Morfogenler**, gelişim sırasında organizmanın belli bir bölgesinde sentezlenen ve konsantrasyon gradienti oluşturacak şekilde yayılarak hücreleri farklı gelişim yollarına yönlendiren maddelerdir. **A-Retinoik asit**, **B-TGF- $\beta$ /BMPs** (kemik morfogenetik protein-

ler), C-Sonic hedgehog (Shh) ve Wingless (Wnt) protein ailesi. Wnt sinyalinde  $\beta$ -katenin bir transkripsiyonel aktivatör olarak gen ekspresyonu düzenleyicisidir. Wnt sinyal yokluğunda, yıkım kompleksinde yer alan glikojen sentaz kinaz-3 (GSK-3) ile  $\beta$ -katenin fosforillenir ve ubiquitinasyon ile yıkılır. Wnt proteini, membrandaki reseptör Frizzled ve lipoprotein reseptör ilişkili protein (LRP) koreseptörü ile sitoplazmik protein Dishevelled'e bağlanınca yıkım kompleksi aktifleşmez ve serbest kalan  $\beta$ -katenin nükleusa geçer. Nükleusda Tcf transkripsiyonel faktör ile kompleks oluşturan  $\beta$ -katenin hedef genlerin transkripsiyonunu aktifleştirir. Wnt ailesinin 19 üyesi gelişim esnasında hücre polaritesi oluşturma, çoğalma, apoptoz, hücrenin kaderi ve göçü esnasında çeşitli işlemleri kontrol eder. Bu nedenle Wnt sinyalinin bozulması pek çok kanser ve gelişim bozukluğunda önemlidir. Wnt mutasyonları *çocukluk çağı medulloblastom*'da tanımlanmıştır. Shh ekspresyonu beyin ve omurilik gelişimini organize ettiğinden bu gen mutasyonları otozomal dominant geçişli doğumsal hatalara neden olur.

**Notch/Delta**, gelişim esnasında doğrudan hücre-hücre etkileşimleri ile kök hücre nişlerinin varlığını sürdürmesi, çoğalma, apoptoz ve farklılaşma ile hücrenin kaderini belirleyen sinyal yoludur. Notch transmembran proteini reseptör, ligandı ise komşu hücre membran yüzeyinde yine transmembran protein olan deldadır. Ligand reseptör bağlanması proteolitik olayları tetikler. Notch hücre içi domaini (NICD)  $\gamma$ -sekretaz gibi proteazlarla parçalanır. NICD nükleusa geçerek bir transkripsiyonel faktör olan CLS ile bağlanır ve hedef genleri aktifleştirir. Çeşitli kanser tiplerinde Notch sinyali ve Hes1 ekspresyonu büyüme ve sağ kalım ile ilgilidir.

**Transkripsiyon faktörler**, çeşitli hücreyel olaylar için gerekli olan genleri baskılayan veya aktifleştiren proteinlerdir. Transkripsiyon süperailisi üç farklı sınıf Homeobox (HOX), PAX ve Helix-Loop-Helix (HLH) transkripsiyon faktörleri proteinlerinden oluşur. Çoğu transkripsiyon faktör HOX veya HLH ailesinin üyesidir. Genellikle bir transkripsiyon faktör hedef genlerin başlatıcı/hızlandırıcı bölgelerinde spesifik nükleotit dizilerine bağlanır ve yardımcı proteinlerin etkileşimiyle hedef genlerin transkripsiyon hızını düzenler. Bazı transkripsiyon faktörleri DNA'ya bağlanmaz ve başlatıcı DNA'ya bağlı diğer transkripsiyon faktörlerine bağlanarak transkripsiyonu düzenlerler. Örneğin, **Greig sephalopolisindaktili (HOX D13)** malformasyonunda ekstra parmak oluşumunun nedeni GLI3 transkripsiyon faktör geninde meydana gelen mutasyondur. **Waardenburg sendromu tip 1** hastalarında PAX 3'deki mutasyonun neden olduğu melanosit anormallikleri, işitme bozuklukları ve oküler bozukluklar gözlenir. HLH transkripsiyon faktörleri gelişimde çeşitli doku farklılaşmalarının ve hücre kaderinin tayinini düzenlerler.

Tek bir sinyal yolunda sinyal uzunluğu ve aktivitesi *geri bildirim döngüleri* ile düzenlenir. Örneğin, nükleusa geçen NF- $\kappa$ B tarafından  $\kappa$ B ekspresyonu yapılırsa NF- $\kappa$ B aktivitesini durduran bir **geri bildirim döngüsü** oluşur. Aynı zamanda hücre içinde çok kompleks olan çeşitli sinyal yollarının **karşılıklı etkileşimi** (cross-talk) ile sinyal ağ oluşumu söz konusudur. Örneğin; hücre yüzey reseptörleri olan integrin, GPCR ve RTK'lar farklı ligandlara bağlanarak Ras aktivasyonu ile MAP kinaz yolunu kullanarak benzer şekilde büyümeyi kontrol eden gen ekspresyonuna neden olurlar. Farklı sinyal yolları birbirlerinin cevaplarını baskılayarak negatif veya uyararak pozitif düzenleme için etkileşirler. Örneğin, Ras/Raf/MEK/ERK ve PI3-kinaz/Akt/mTORC1 yolları hem pozitif

hem de negatif etkileşim ile birbirlerine bağlıdır. Ras, PI3-kinazı aktifleştirirken Akt tarafından Raf inhibisyonu gerçekleşir. Aslında her hücrenin eş zamanlı ve karşılıklı olarak birçok sinyal yolağına cevap oluşturması yanı sıra farklı yapısal (scaffold) proteinler, MAP kinaz sinyal taşıyıcılarının düzenlenmesinde fiziksel destek dışında aşağı yöndeki sinyal ileti reseptörü ve hedeflerinin özgünlüğünde de iş görürler. MAP kinaz yolağında örneğin, KSR scaffold proteini Raf, MEK ve ERK'e bağlanarak onların düzenli aktivitesini sağlar. MEK, ERK fosforillendikten sonra KSR'den ayrılır ve nükleusa geçer.<sup>1-14</sup>

#### Klinik Önemi

Histamin ligandının histamin H1 reseptör antagonisti olan loratadin gibi ilaçlar alerjik septomları önlemede kullanılır.

Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptör-3 (VEGFR-3) kinaz domainindeki mutasyon ile Milroy hastalığı ortaya çıkar.

Genetik olarak medulloblastomların Wnt-aktif veya Shh-aktif P53-mutant gibi alt sınıfları tanımlanır.

Kronik myeloid lösemi tedavisinde tirozin kinaz inhibitör grubu ilaçlar kullanılmaktadır.

Greig sephalopolisindaktili (HOX D13) malformasyonunda ekstra parmak oluşumunun nedeni GLI3 transkripsiyon faktör geninde meydana gelen mutasyondur.

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Declaration of Interests:** The author declares that she has no competing interest.

#### Kaynaklar

1. Iwasa J, Marshall W. *Karp's Cell & Molecular Biology*. 9<sup>th</sup> Ed. Wiley, 2020.
2. Nair A, Chauhan P, Saha B, Kubatzky KF Conceptual Evolution of Cell Signaling. *Int J Mol Sci*. 2019;20(13), [Crossref]
3. Alberts B, Heald R, Johnson A, et al. *Molecular Biology of the Cell*. 7<sup>th</sup> Ed. New York: W. W. Norton & Company, 2022.
4. Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach*. 8<sup>th</sup> Ed. New York, Sinauer Associates, 2019.
5. Goodman, SR. Ed. *Goodman's Medical Cell Biology*. 4<sup>th</sup> Ed. USA, Elsevier, 2021.
6. Kierszenbaum AL, Tres LL. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*. 5<sup>th</sup> Ed. USA, Elsevier, 2020.
7. Azeloglu EU, Iyengar R. Signaling Networks: Information Flow, Computation, and Decision Making. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015;7(4): A005934. [Crossref]
8. Du Z, Lovly CM. Mechanisms of Receptor Tyrosine Kinase Activation in Cancer. *Mol Cancer*. 2018, 17, 58 [Crossref]
9. Matsui WH. Cancer Stem Cell Signaling Pathways. *Medicine (Baltimore)*. 2016; 95(1 Suppl 1): S8-S19. [Crossref]
10. Luo K. Signaling Cross Talk between TGF- $\beta$ /Smad and other Signaling Pathways. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2017;9(1): a022137.

- [Crossref]**
11. Panagiotopoulos AA, Papachristofi C, Kalyvianaki K, et al. Simple Open Source Bioinformatic Methodology for Initial Exploration of GPCR Ligands' Agonistic/Antagonistic Properties. *Pharmacol Res Perspect.* 2020;8(4): 1-12. **[Crossref]**
  12. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. *The Developing Human. Clinically Oriented Embryology.* 10<sup>th</sup> Ed. Elsevier, 2016.
  13. Pollard TD, Earnshaw WC, Lippincott-Schwartz J, Johnson GT. *Cell Biology.* 3<sup>rd</sup> Ed. Philadelphia, Elsevier, 2017.
  14. Lodish H, Berk A, Kaiser C, et al. *Molecular Cell Biology.* 9<sup>th</sup> Ed. Macmillan Learning, 2021.

# **BÖLÜM 11**

## **HÜCRE İSKELETİ**

# Hücre İskeleti

## The Cytoskeleton

### BÖLÜM HAKKINDA

Mikrotübüller, mikrofilamentler ve ara filamentler hücre iskeleti olarak adlandırılır. Mikrotübüller gibi aktin mikrofilamentleri de polar yapılardır, yapısal olarak farklı yavaş büyüyen (-) uç ve hızlı büyüyen (+) uca sahiptirler. Çeşitli mikrotübül ile ilişkili proteinler mikrotübülün (+) ucuna bağlanarak dinamik kararsızlığı kontrol ederler. Mikrotübüller sitoplazmik kinezin ve dinein motor proteinleri ile uzun mesafeli taşımada rol alırlar. Oysa kısa mesafeli taşımalarda aktin filamentleri rol oynar. Aktin filamentlerinin hücrede birbirleri ile veya diğer bileşenlerle birleşmeleri aktin bağlayıcı proteinlere bağlıdır. Sekiz adet tetramerin sarmal biçiminde bir araya gelmesiyle 10 nm çapında bir ara filament oluşur. Keratin çeşitleri özellikle primer odağı bilinmeyen metastazlarda ve az farklılaşmış karsinomlarda önemlidir.

**Anahtar kelimeler:** Hücre iskeleti, mikrotübül, mikrofilament, ara filament

### ABOUT the CHAPTER

Microtubules, microfilaments and intermediate filaments are called cytoskeleton. Actin microfilaments, like microtubules, are polar structures with structurally distinct, slow growing (-) and fast growing (+) ends. Various microtubule-associated proteins control dynamic instability by binding to the (+) end of the microtubule. Microtubules participate in long-distance transport with cytoplasmic kinesin and dynein motor proteins. However, actin filaments play a role in short-distance transport. The assembly of actin filaments with each other or with other components in the cell depends on actin-binding proteins. An intermediate filament with a diameter of 10 nm is formed by the helical combination of eight tetramers. Keratin types are particularly important in metastases of unknown primary site and poorly differentiated carcinomas.

**Keywords:** Cytoskeleton, microtubule, microfilament, intermediate filament



Sitoplazmik matris içinde yer alan protein yapıdaki hücre ağı; mikrotübüller, mikrofilamentler ve ara filamentlerden oluşur ve **hücre iskeleti** olarak adlandırılır (Şekil 1).

### I-Mikrotübüller

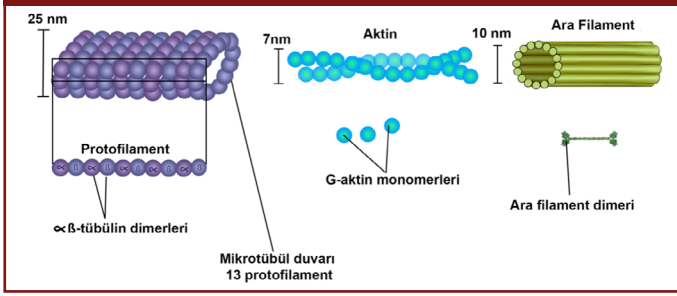
Mikrotübüller ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında bulunan tübül yapılarıdır. Mikrotübüller elektron mikroskopunda 25 nm çapında birkaç mikron uzunluğunda ve ortası boş şekilde görülürler. Mikrotübüller kararlılıklarına göre labil ve stabil olarak ikiye ayrılır. Sitoplazmik mikrotübüller, iç iplikleri değişken yani labil mikrotübüllerdir. Sentriyol, silya ve flagellum yapısında bulunanlar ise stabil mikrotübüllerdir.

Mikrotübülün 5 nm kalınlığındaki duvarı **13 protofilament**ten oluşur. Her bir protofilament ise tübülün alt ünitelerinin oluşturduğu yapıdır.  **$\alpha$**  ve  **$\beta$  tübülün** adlı monomerler bir dimer oluşturur ve bu dimerler mikrotübülün uzun eksenine paralel yerleşirler.  $\alpha$  ve  $\beta$  tübülün dimerlerinden oluşan bir mikrotübül yapısı polarite gösterir. Bütün protofilamentler aynı yönde dizildiklerinden (-) uç  $\alpha$  tübülün, (+) uç  $\beta$  tübülün ile sonlanır. Her iki alt ünite tercihen (+) ucundan eklenir.  $\alpha$  tübülüne GTP geri dönüşümsüz bağlanır. Oysa  $\beta$  tübülün üzerine bağlanan GTP geri dönüşümlü olup GDP'ye hidrolizlenir.

Uzayan bir mikrotübül GTP içeren tübülün alt üniteleri ile GTP kep içerir. (+) uçta GTP kep uzamayı sağlarken, kayb olduğunda kısalma başlar. **Polimerizasyon** (yapım) hızı, GTP hidrolizden hızlı ise (+) uçta GTP bağlı alt ünitelerden oluşan bir **GTP kep** oluşur. Alt ünite eklenmesinden daha hızlı hidroliz olursa, GTP kep kaybı ile mikrotübül stabilitesi bozulur ve **depolimerizasyon** (yıkım) olur. Mikrotübül ucuna bağlanan **mikrotübül ile ilişkili proteinler (MAP)** örneğin; MAP2, MAP4, tau, *sitoplazmik bağlantı proteini 170*



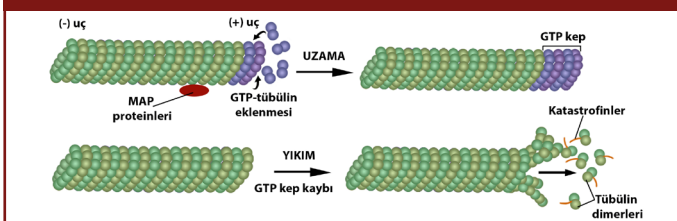
Şekil 1. Hücre iskelet elemanları ve yapıtaşları



*kDa* [CLIP170] ile mikrotübüller uzar (stabilizasyon). Mikrotübül yapısında %5-20 arasında mikrotübül ile ilişkili yüzden fazla protein bulunur. MAP proteinler mikrotübüller ile hücrenin diğer komponentleri arasındaki bağlantısını sağlarlar. Bu proteinler mikrotübül **stabilizasyonu** yani dimerlerin dağılmasını önlerler. Mikrotübül oluşumunda tübülün monomerlerinin bir araya gelmesinde kalsiyumun rolü vardır. Mikrotübül polimerizasyonu interfaz ve metafazda en yüksek seviyededir. GTP hidrolizi sonucu mikrotübül yapısının değişimi gerçekleşir. CLIP170 ve *sentromer protein-E* (CENP-E) kromozomları mikrotübüllere bağlar. Tüm omurgalı hücrelerinde rastlanan *MAP4* mitoz bölünmede mikrotübül stabilitesini düzenler. Bir MAP proteini olan XMAP (*Xenopus mikrotübülle ilişkili protein*) 215 tübülün dimerlerine bağlanarak mikrotübül uzamasını artırır. MAP protein olan *tau* proteinleri aksonlarda mikrotübül stabilitesini sağlarlar ayrıca tübülün polimerizasyonunu hızlandırır ve çapraz bağlantılar kurarlar. Tau protein sentezi inhibe edildiğinde akson gelişemez. Dendritlerde *MAP2*, aksonlarda ise *MAP2* yerine bulunan tau proteinleri mikrotübüllere uzunlukları boyunca bağlanarak onları stabilize ederler. Bazı MAP'lar örneğin, *mikrotübül (+) uç izleme proteinleri* (+TIPs) mikrotübülün (+) ucuna bağlanarak mikrotübülün plazma membranı veya ER gibi diğer hücresel yapılara bağlanmasını sağlar. Bazı TIP'ler (+) uçları yıkıma karşı kararlı hale getirerek mikrotübülün uzamasını sağlarlar. MAP sınıfından *sitoplazmik bağlantı ile ilişkili protein* (CLASP) mikrotübüllerin depolimerize olmasını durdurarak yeniden büyümelerini başlatıp yıkımdan kurtarır.

MAP'lerden *kinezin 13*,  $\alpha$  ve  $\beta$  tübülün dimerlerine bağlanarak protofilament ucundan yıkıma neden olur. *Stathmin* mitoz mekiğinde tübülün dimerlerine bağlanarak mikrotübüllerin yıkımına neden olur. Mitoz başlangıcında stathmin fosforilasyonu ile yıkım engellenirken hücre mitozdan çıkmadan defosforilasyon ile stathmin yeniden aktifleşir. Kısılma durumunda protofilamentler arasındaki lateral ilişkiler bozulursa mikrotübül uçları dışa doğru yayılır ve protofilamentler tübülün alt ünitelerine ayrılırlar. **Katastrofin** proteini ile stabilizasyon bozulur ve mikrotübüller kısılır. Katastrofinler ve MAP'lar arasındaki dengede mikrotübül uzunluğunu etkiler (Şekil 2).

Şekil 2. Mikrotübül uzaması ve yıkımı



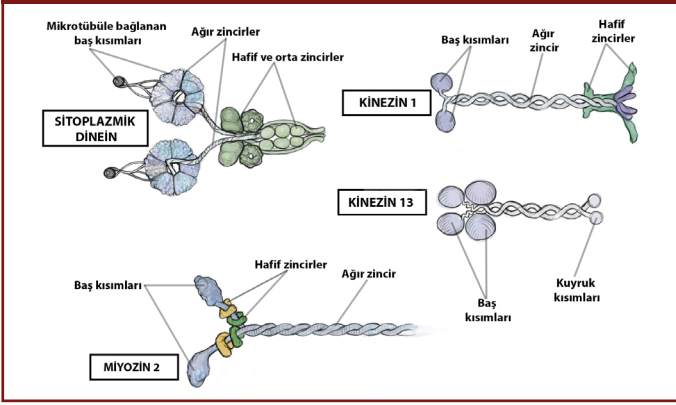
Mikrotübül oluşumunda mikrotübül organize eden merkezler (MTOC) iş görür. Hayvan hücrelerinde iki esas MTOC tipinden biri silya ve kamçı oluşumu ile ilişkili olan **bazal cisim** diğeri işipliği oluşumu ile ilişkili olan ise **sentrozom** olarak adlandırılır. MTOC yani sentrozom, sentrozom matriksi (perisentriyoler materyal) denen amorf bir materyal ile çevrilidir. İnterfazda sentrozom matriksi, mikrotübüllerin sitoplazmada dizilişini sağlar. Sentrozom matriksi çeşitli proteinleri içerir. Bu proteinlerden  **$\gamma$ -tübülün halka kompleksi** ( $\gamma$ -TURC) tübülün alt ünitesi olmayıp  $\alpha$  ve  $\beta$ -tübülün alt ünitelerinin polimerizasyonunda iş görür. Yani 13 protofilament içeren bir mikrotübül oluşumunda  $\gamma$ -tübülün halka kompleksinin kalıp rolü oynadığı düşünülmektedir. Mikrotübüllerin (-) uçları kutup ile bağlantılı olup (+) uçları serbesttir. **Sentriyoller** sentrozomun mikrotübül düzenleyici görevleri için gerekli gözükmemektedir. Çünkü tek hücreli ökaryotlar ve mayoz geçiren çoğu hayvan hücresinde sentriyol bulunmaz. Dakikada her bir sentrozom sitoplazmik mikrotübüllerin yıkımı ile açığa çıkan tübülün dimerlerini kullanarak ~1000 yeni mikrotübül oluşturmaktadır. Mitoz evresindeki hücreler için mikrotübülün ortalama ömrü 1 dakikadan az iken interfaz evresindeki hücreler için 5-10 dakikadır.

Tek bir mikrotübülün (-) ucu kararlı halde iken mikrotübülün (+) ucunda polimerizasyon sırasında ya da hemen sonra  $\beta$ -tübülün GTP hidrolizinden dolayı **dinamik kararsızlık** yani uzama ve kısılma arasında gidip gelmeler görülür. Mikrotübüller uçlarındaki kinetik farklılıklardan dolayı dinamik yapılardır. Mikrotübüllerin (+) ucunda hızlı GTP hidrolizi olurken, (-) ucun MTOC ile kararlı tutulması dinamik kararsızlığa sebep olur. Mikrotübülün dinamik kararsızlığını  $\beta$  tübülüne bağlı GTP hidrolizi belirler. Hücre içi tübülün konsantrasyonu 10-20  $\mu$ M arasında iken polimerizasyon gerçekleşir. Mikrotübül dinamiğini etkileyen faktörler: 1-Mikrotübülün (+) ucunda  $\beta$ -tübülüne bağlanma yerinde GTP veya GDP varlığı mikrotübül dayanıklılığını etkiler. GDP-tübülün dimerlerinin ayrılma hızı GTP-tübülün dimerlerinden daha fazladır. 2-Büyüme ve yıkım arasındaki gidip gelmeler kritik konsantrasyon (Cc)'a yakın tübülün konsantrasyonlarında olur. Cc üstündeki seviyelerde dimerler polimerizasyona uğrarken Cc seviyesinin altında mikrotübüller depolimerize olurlar. 3-Mikrotübülün uzama ve kısılma arasındaki gidip gelme hızı MAP'larla düzenlenir. Çeşitli MAP'lar mikrotübülün (+) ucuna bağlanarak dinamik kararsızlığı kontrol ederler. Ayrıca mikrotübül kararlılığı tübülünün çok sayıda translasyon sonrası modifikasyonlar ile de düzenlenir. Mikrotübüller düşük sıcaklık, yüksek pH, kolşisin, vinblastin gibi maddelerle depolimerize olurlar. Bu etkiler ortadan kalktığı zaman [GTP; düşük  $Ca^{2+}$ , 37°C ve düşük pH 6.8] tekrar eski yapılarına dönerler yani polimerize olurlar. Mikrotübül dimerlerinin polimerizasyonu ve dayanıklılığı ısıya bağlıdır. Örneğin mikrotübüller 4°C de  $\alpha$  ve  $\beta$ -tübülün dimerlerine ayrılırken 37°C ve GTP varlığında dimerler mikrotübül oluştururlar.

Mikrotübül motor proteinleri dinein ve kinezinlerdir. Aktin filamentleri ise motor protein **miyozin II** ile kas kasılmasında iş görürler. Kinezin ve miyozinin motor bölgeleri birbirine benzer. Dinein mikrotübülün (+) ucundan (-) ucuna doğru, kinezin ise (-) ucundan (+) uca doğru bağlantı kurar. **Dinein** hafif ve orta zincirlerle bağlı iki ya da üç ağır zincire sahiptir. Ağır zincirin globüler baş bölgeleri motor bölgeleridir. Sitoplazmik dinein molekülünün yüküne bağlanması için dinaktin komplekse ihtiyacı vardır. İnsanda 45'den fazla kinezin tanımlanmıştır. Bu kinezinler organel, mRNA ve kromozom taşınmasında, mikrotübül kayması ve yıkımında rol oynar-

lar. **Kinezin 1** motor proteini iki ağır zincir ve iki hafif zincirden oluşan tetramer yapıdadır. Ağır zincir, bir çift yuvarlak baş domaini ve hafif zincirlerle birleşen bir çift kuyruk domaini içerir. Ağır zincirin globüler baş molekülleri mikrotübülleri bağlayan motor bölgeleridir. Kinezinin kuyruk kısmı organel veya membrana kinezin reseptör protein aracılığı ile bağlanır. Baş ve kuyruk arasında sap bölgesi bulunur. Kinezin 1 motor proteini ATP varlığında veziküllerin ileri yönde yani mikrotübülün (+) ucuna doğru taşınmasını sağlar. **Kinezin 5** bipolar motorlara sahip dört ağır zincire sahiptir. Antiparalel mikrotübüller arasında (+) uca doğru kayma hareketini sağlar. **Kinezin 13** proteinlerinin tipik motor aktivitesi yoktur. Motor domain kısmı ağır zincirlerin ortasında bulunur ve ATP hidrolizine neden olarak depolimerizasyonu artırır. **Kinezin 14** mikrotübülün (-) ucuna doğru hareket eden tek sınıftır (Şekil 3).

Şekil 3. Motor proteinler



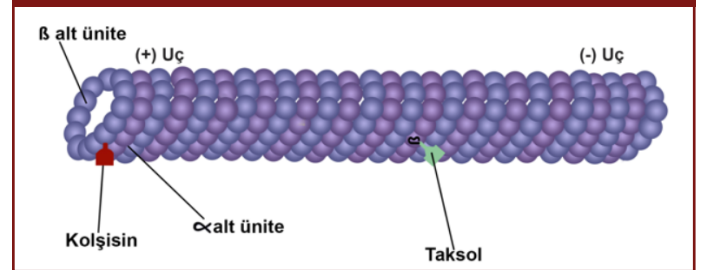
Kinezin ve sitoplazmik dinein motor proteinleri uzun mesafeli yüklerin taşınmasında iş görürler. Oysa kısa mesafeli yüklerin taşınmasında aktin filamentleri rol oynarlar. Hücrenin gövdesinden akson ucuna doğru taşıma (anterograde taşıma) kinezin aracılığı ile mikrotübül boyunca bir vezikülün ileri doğru taşınması için kullanılan terimdir. **Sitoplazmik dinein** aracılığı ile mikrotübül boyunca bir vezikülün nöron gövdesine doğru geri taşınması (retrograde taşıma) olarak adlandırılır. Retrograde aksonal taşıma mikrotübül, motor veya onun aktivatör veya adaptörlerinde görülen mutasyonlar nedeniyle değişiklikler gösterebilir.

Sitoplazmik mikrotübüllerin fonksiyonları: **1-Mikrotübüllerin hücre içi taşıma fonksiyonu**, sinir hücre aksonlarında nörotransmitterlerin sinaptik uca taşınmasında, melanositlerdeki melanin pigmenti taşıyan granüllerin sitoplazmadaki hareketi, ER ile Golgi kompleksi arasında ve Golgi kompleksi ile hücre membranı arasında salgı granüllerinin taşınmasında hücre içi mikrotübül ağı iş görür. **2-Mikrotübüllerin hareket fonksiyonları**, canlı hücreler incelendiğinde sitoplazmalarının devamlı hareket halinde olduğu ve bu sitoplazma hareketine çeşitli hücre organellerinin de katıldığı görülür. Sitoplazma içi harekette mikrotübüller önemli rol oynarlar. Hareket halindeki canlı hücre glutaraldehit ile fikse edilip elektron mikroskobu ile incelendiğinde organel membranlarının etrafının mikrotübüller ile sarılı olduğu gözlenir. Örneğin, ER organelleri mikrotübüllere bağlanarak kinezin motor proteinleri yardımı ile hücre membrana doğru çekilir. Oysa Golgi kompleksinin hücrenin merkezinde sentrozoma yakın yerleşmesinde sitoplazmik dinein rol oynar. Silya ve kamçı yapısındaki mikrotübüller kasılma hareketinde rol oynarlar. **3-Mikrotübüllerin hücre şekli fonksiyonu**, mikrotübüller diğer hücre iskelet elemanları ile

birlikte hücre şeklinin oluşması ve korunmasında görevlidirler. Mikrotübüllerin depolimerizasyonu ile prizmatik hücre yuvarlak şekle dönüşür. Trombosit hücre membranı altında bulunan mikrotübüllerin dizilişi ile bu hücrelerin disk şekli korunur. Mikrotübüllerin hücre asimetrisinin korunmasında da rolleri vardır. **4-Mitoz mekiği oluşumu ve kromozom hareketleri**. Mitoz mekiğinde dört çeşit mikrotübül vardır: Aster, kinetokor, polar ve kromozomal mikrotübüller. Motor proteinler iğ ipliklerin organizasyonunda iş görürler. Örneğin, kinezin 5 motor proteini mikrotübül demetlerini paralel şekle sokar. Kinezin 4 ve 10 mikrotübülleri kromozom kollarına bağlanır. Mikrotübülün kısalan tarafında kinezin 13 proteini mikrotübülün depolimerizasyonunu uyarırken, dinein-dinaktin kompleksi kromozomu kutba doğru çeker. Her iki kutuptan uzayan mikrotübüllerin kromozomların kardeş kinetokorlarına bağlanması ile kromozomlar dengededir. Eğer her iki kutuptan uzayan mikrotübüller tek bir kinetokora veya tek bir kutuptan gelen mikrotübüller her iki kinetokora veya tek bir kutuptan uzanan mikrotübüller tek bir kinetokora bağlanırsa kromozomların stabilitesi bozulur ve kromozomların kutuplara çekilmesinde hatalar oluşur.

Mikrotübüller oldukça labil yapılardır ve özel **antimitotik ilaçlara** hassastırlar. Taksol ilk kez çok yavaş büyüyen pasifik porsuk ağacından elde edilmiştir. Bir hastayı tedavi etmek için gereken taksol ancak birkaç ağaçtan elde edilebilir. O yüzden günümüzde yarı sentetik olarak elde edilmektedir. **Taksol** mikrotübül yapısında  $\beta$  alt üniteye bağlanarak mikrotübül polimerizasyonunu engeller ve hücre bölünmesini durdurur. Taksol kansere karşı etkili bir mikrotübül inhibitörü olup meme, ovaryum gibi çeşitli kanser tedavilerinde kullanılmaktadır. Bitkilerden izole edilen **kolşisin** tübülün heterodimerlerine bağlanarak mikrotübül polimerizasyonunu ve böylece mitoz mekiği oluşumunu durdurur. Kolşisinin sentetik olanı **kolsemid** bitki ve hayvan hücrelerinde düşük konsantrasyonda kullanıldığında hücreler metafazda kalır. Hücre döngüsü çalışmalarında senkronizasyonu sağlar (Şekil 4). 2500 yıldan daha önce eski Mısırlılar kalp problemlerinde kolşisini kullanmışlardır. Günümüzde bu ilaç esas olarak gut hastalığı, eklem ve deriyi etkileyen bazı hastalıklarda kullanılmaktadır. **Vinblastin** ise mikrotübül depolimerizasyonuna ve sonuçta tübülün birikmesine neden olur.<sup>1-7</sup>

Şekil 4. Mikrotübül hedefli ajanlar

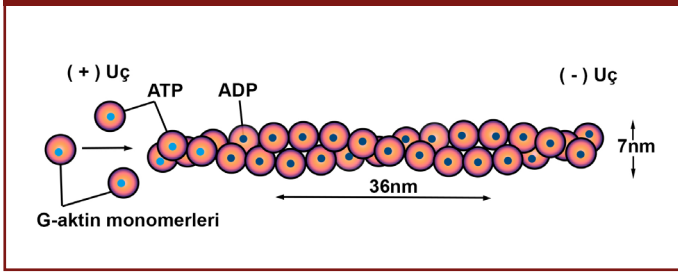


## II-Mikrofilamentler

Ökaryotik hücrelerde mikrofilamentlerden **aktin** en fazla bulunan proteindir. Örneğin, kas hücrelerinin toplam hücre proteininin %10'u aktindir. **G-aktin** yani globüler monomer alt üniteleri ATP varlığında doğrusal şekilde bir araya gelip 36 nm'de bir sarmal iplik olan filamentöz yani 7 nm kalınlıkta **F-aktini** oluşturur (Şekil 5).



Şekil 5. Aktin mikrofilyament oluşumu



Çeşitli hücrelerde aktinlerin yerleşimleri, çoğunlukla hücre membranı ile ilişkilidir. *Hücre korteksi* hücrenin şeklinin korunması için membran altına yerleşen aktin mikrofilyamentleri ve aktin bağlayıcı proteinlerden oluşur. İnsanda aktinin farklı izoformlarını kodlayan altı gen tanımlanmıştır.  **$\alpha$ -aktin kas** kasılmasında iş görürken,  **$\beta$ -aktin** ve  **$\gamma$ -aktin** ise kas dışındaki hücrelerde bulunur. Hücre membranı ile aktin filamentlerinin ilişkisi hücre-hücre bağlantısında veya hücre-matriks bağlantısında görülür. **Hücre hareketi** sırasında örneğin, fibroblast hücrelerinde *lamellipodlar* yani öncü uca bulunan aktin içeren geniş uzantılardır. *Filopodlar* ise lamellipodlardan büyüyen plazma membranının aktin demetleri ile desteklenmiş ince uzantılardır. *Stres lifleri*,  $\alpha$ -aktinin ile çapraz bağlanmış kasılabilen kararlı aktin demetleri olup hareketli hücrelerde az miktarda bulunur. Mikrotübüller gibi aktin filamentleri de polar yapılardır, yapısal olarak farklı, yavaş büyüyen (-) uç ve hızlı büyüyen (+) uca sahiptirler. Aktinin (+) ucu yeni alt ünitelerin eklendiği, (-) uç ise yıkıldığı ucudur. G-aktine ATP veya ADP bağlandığı zaman üç boyutlu yapısı değişerek polimerize kalır. G aktin monomerleri ile F aktin konsantrasyonunun dengede olduğu kritik konsantrasyonda (Cc) polimerizasyonu olmaz. Ancak G aktin konsantrasyonu Cc'un üstünde ise filament oluşumu gerçekleşir. Aktin filamentlerinin hücre içi yerleşimleri üç şekilde olur. *Paralel demetler*; filamentler filopod yapısında aynı yönde düzenlenmiştir ve aralarındaki mesafe çok azdır. *Kontraktıl demetler*; mitoz esnasında kontraktıl halka yapısında ve hücreye sağlamlık veren stres liflerinde bulunur. Filamentler birbirlerine zıt yönde düzenlenmiştir ve filamentler arası mesafe, paralel demetlere nazaran daha fazladır. *Jel benzeri ağ*; hücre korteksinde yer alan bu ağda filamentler rastgele uzanır ve oldukça gevşek olarak düzenlenir.

Aktin filamentlerinin uzunlukları, dayanıklılıkları, hücrede birbirleri ile veya diğer bileşenlerle birleşmeleri aktin bağlayıcı proteinlere bağlıdır. Örneğin, eritositlerde iki aktin bağlayıcı uca sahip spektrin aktin bağlayıcı proteindir. Aktin bağlayıcı proteinlerin çoğu hücre membranının hemen altında yer alan hücre korteksi denen bölgede yer alır. Bu tabaka hayvan hücrelerine mekanik bir dayanıklılık vererek fagositoz ve sitokinez gibi değişik yüzey hareketlerinin yapılabilmesini sağlar. G aktinin in vitro polimerizasyonu için G aktin monomerleri önce kalıcı aktin kompleksleri oluştururlar. Daha sonra filamentin her iki ucunda uzama evresi gerçekleşir ve F-aktin oluşur. Denge durumunda ATP-G aktin alt üniteleri (+) uca eklenirken, ADP-aktin alt üniteleri (-) ucundan ayrılır. Aktin filamentlerinin polimerizasyonu, depolimerizasyonu ve organizasyonları **aktin bağlayıcı proteinler** ile düzenlenir. Aktin bağlayıcı proteinlerden *CapZ* filamentin (+) ucuna başlık olarak eklenerek yeni alt birimlerin eklenmesine engel olur. Aktin filamentinin oluşum merkezinde *forminler* uzun aktin filamentlerinin oluşumunda rol oynarken, aktinle ilişkili protein *[Arp] 2/3 komp-*

*leksi* dallanmış ağ yapısının oluşumunda iş görür. *Profilin* ATP varlığında ADP-aktin monomerlerini ATP-aktine dönüştürerek aktin filamentinin uzamasında iş görür, *kofilin* ise aktin filamentlerini keserek (+) uca yeni aktin filament oluşumunu başlatır. Enfeksiyonla mücadele için lökositlerin dokulara göçü, amiplerin hareketi, gelişim boyunca embriyonik hücrelerin hareketi, metastaz esnasında kanserli hücrelerin göçü gibi farklı tipteki hücrelerin hareketinde aktin filamentleri iş görür. Hücre hareketini uyaran Rho ailesi üyeleri, Arp 2/3 kompleksi ve forminler aracılığı ile yeni aktinlerin oluşumunu sağlar. Mantardan elde edilen toksinler aktin polimerizasyonunu engeller. **Sitokalazin D** (+) uca bağlanarak G-aktin eklenmesine engel olur. **Falloidin** ise aktin filamentlerine bağlanarak depolimerizasyonu önler.

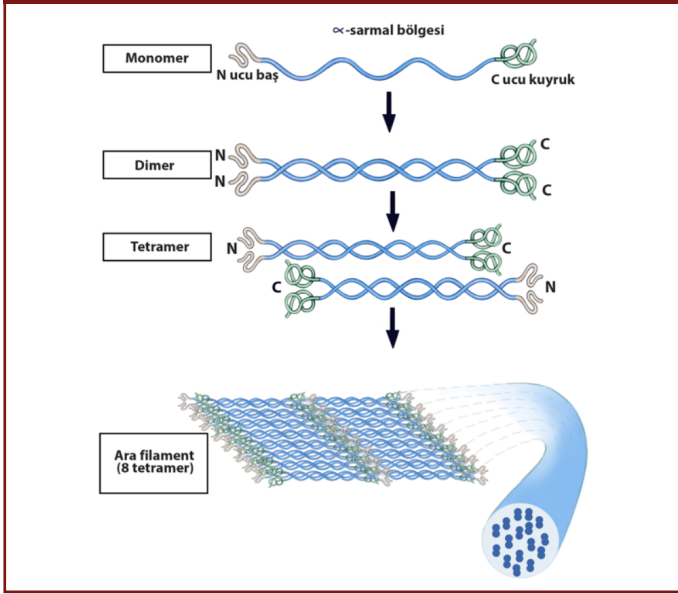
Kayan filament modeline göre çizgili kas kasılmasında, aktin (ince) filamentleri miyozin (kalın) filamentlerinin arasına geçecek şekilde sarkomerin ortasına doğru kayar. Sonuçta filament uzunluğu değişmeksizin sarkomer kısalır. ATP hidrolizi sayesinde açığa çıkan enerji ve  $Ca^{2+}$  varlığında miyozin başları aktinin (+) ucuna doğru kayar. **Motor protein miyozinin** hareketi aktin filamentlerini sarkomerin merkezine doğru çeker ve kas kasılır. İki baş kısmına sahip ağır zincir ve iki çift hafif zincir içeren **miyozin II** kas kasılmasında işlevseldir. Miyozin II molekülünün globüler baş kısmı hem aktin filamentini bağlar hem de ATP hidrolizini gerçekleştirir. Çizgili kasta aktin-miyozin kasılmasının düzenlenmesi kalsiyumun troponine bağlanması ile kontrol edilirken, düz kasta ve kas dışı hücrelerde miyozin II hafif zincirlerden birinin fosforilasyonu ile düzenlenir. Sitoplazma bölünmesi olan sitokinezde kontraktıl halka yapısı, miyozin II ve aktin filamentlerinden oluşur. Kas dışı hücrelerde yirmiden fazla farklı miyozin çeşiti vardır. Bir baş bölgesi ve farklı sayılarda hafif zincir içeren **miyozin I** vezikül veya organellerin aktin filamentleri boyunca taşınmasını sağlar. İki baş domaini ve boyunda altı hafif zincir içeren **miyozin V** vezikül veya organel taşınmasında aktin filamentleri ile birlikte iş görür.

Mikrofilyamentler çizgili kas ve kalp kasında düzenli, düz kasta ise dağınıktırlar. Bir kasın kasılma hızı ve gücü, doğru düzenlenen ve birbirine belirli mesafede duran aktin ve miyozin filamentlerin oluşturduğu sarkomere bağlıdır. Aktin filamentleri Z diskine (+) uçları ile tutunur. Her bir kas lifi aktin ve miyozin mikrofilyamentlerine sahip çok sayıda miyofibril içerir. Miyofibriller kas hücrelerinin plazma membranına distrofin proteini aracılığıyla bağlanır. **Duchenne kas distrofi** hastalarda distrofin protein eksikliği bulunur. **Wiskott-Aldrich sendromu**; fagositik hücreler ve trombositler fonksiyonlarını gerçekleştirmek için aktine ihtiyaç duyarlar. Çeşitli proteinler aktin polimerizasyonunda rol alır, örneğin; Arp2/3 kompleksi Wiskott-Aldrich sendrom proteini (WASP) ile aktifleşir. WASP gen mutasyonu X kromozomunda bulunduğu için erkekleri etkiler. Özellikle T ve B hücre fonksiyon bozukluğu ile tekrarlayan solunum yolları enfeksiyonları, trombosit sayısında azalma, deride egzama görülür<sup>3-10</sup>

### III-Ara (Intermediate) Filamentler

10 nm çapında aktinden kalın, miyozinden ince suda çözünmeyen proteinlerdir. Ara filament monomeri amino baş kısmı, karboksil kuyruk ve ~310-350 amino asit içeren bir alfa ( $\alpha$ ) sarmal bölgesi içerir. İki monomer bir araya gelerek dimer yapısını, sarmal yapıdaki lateral bağlantılı iki dimer dört polipeptit zincirinden meydana gelen tetramer yapıyı oluşturur. 8 adet tetramerin sarmal biçiminde bir araya gelmesiyle 10 nm çapında bir **ara filament** oluşur (Şekil 6).

Şekil 6. Ara filament oluşumu



Çeşitli fizyolojik şartlarda ara filamentler alt ünitelerine ayrılmadan stabil kalabilirler. Farklı hücre tiplerinde değişik boyut, çap ve yapıdadırlar. Sentetik bileşik **akrilamid** ara filament ağ yapısının bozulmasına neden olur. Ara filamentler sitoplazmada ve nukleusda bulunmalarına göre başlıca iki ana gruba ayrılır. A-Sitoplazmik olanlar örneğin; keratinler, vimentin, vimentinle ilişkili proteinler ve nörofilamentlerdir. B-Nukleus iç membranının altında yer alan nuklear laminlerdir. Nuklear lamina nukleus membranına destek oluştururken, sitoplazmada bulunan ara filamentler hücreye mekanik destek sağlarlar. Çeşitli hücre tiplerinde bulunan ara filamentler hücre hareketinde fonksiyonel olmayıp temel olarak hücrelere **mekanik destek** sağlarlar ve **sinyal iletiminin düzenlenmesinde** iş görürler. Ara filament proteinleri immünohistokimya, Western blot, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemleri ile incelenebilir.

Altmışbeş üzerinde ara filament proteini tanımlanmıştır. Ara filamentler amino asit dizilerinin benzerliklerine göre altı gruba ayrılır. Epitel hücrelerinde **1-Tip I keratin** (asidik keratinler) ve **2-Tip II keratin** (nötral veya bazik keratinler) olarak toplam 30 farklı keratin proteini tanımlanmıştır. Keratinler epidermiste, tırnak, saç, kıl yapısında aşınmaya, su ve ısı kaybına karşı korumada rol oynarlar. Tek bir epitel hücresi farklı keratinleri yapabilir. Vücudun iç boşluklarını saran epitellerde de bulunur. Desmozom bağlantı yapısında sitoplazmaya uzanan keratin ara filamentleri bulunur. Her bir keratin filamentini asidik ve nötral/bazik keratin proteinlerinin eşit karışımından oluşur. Bazı keratin ara filamentlerindeki mutasyonlar ile epidermiste bazal hücrelerindeki keratin filament ağının bozulması sonucu deride su dolu kabarcıklar oluşur. Epitelial tümörlerde keratin alt tiplerinin immünohistokimya yöntemi ile tespiti, tümörün kaynaklandığı hücre tipi ile ilişkili ekspresyona işaret eder. Keratin çeşitleri özellikle primer odağı bilinmeyen metastazlarda ve az farklılaşmış karsinomlarda önemlidir. Ara filamentlerin tespiti tümör patolojisinde tek başına kullanılmamalıdır. Örneğin, merkezi sinir sistemi primer tümörleri keratin pozitifliği gösterdiğinden metastatik karsinomdan immünohisto-

kimya yöntemi ve temel hücre morfolojisi ile ayırt edilebilir. Mutant keratin genleri hücrelerin mekanik direncini zayıflatır ve kalıtsal deri hastalıkları oluşur. *Epidermolizis bülloza simpleks* hastalığında mutant keratin 5 ve 14 genleri yeni doğanda küçük dokunmalar ile deride su toplamalarına neden olur.

**3-Vimentin** filamentleri mezenşim kaynaklı embriyonik veya farklılaşmış hücrelerde örneğin; fibroblast, kan damarı endotel hücreleri ve lökositlerde bulunur. Vimentin genellikle nukleus membranında ve desmozomlarda görülür. Vimentin mikrotübüllerle birlikte organellerin yerinde tutulmasını sağlar. Yağ hücrelerinde lipit damlacıklarının etrafını sarar. Ara filamentlerin çoğunluğu özellikle vimentin yardımcı proteinler yardımıyla örneğin, plektin aracılığı ile güçlenir. Plektin eksikliği kasta ara filamentlerin harabiyeti ile epidermolizis bülloza ile birlikte kas distrofisine neden olur. **Desmin:** Her çeşit kas hücresinde bulunur. Özellikle çizgili kasta Z diskinde aktin filamentlerinin bağlantı bölgesidir. Düz kas hücrelerinin sitoplazmasında ve desmozomlarda bulunur. **Gial fibriler asidik protein:** Merkezi sinir sistemi glia hücrelerinde bulunur. **Periferin:** Periferin proteini periferik nöronlarda sentez edilir.

**4-Nörofilamentler:** Nörofilamentler (NF) nörofilament-**Low**, nörofilament-**Middle** ve nörofilament-**High** proteinlerini içerir. NF-L, NF-M ve NF-H'nin ekspresyonu birlikte yapılır ve nöronlarda heteropolimerler oluştururlar. Bu proteinler nöronlarda bulunur ve özellikle motor nöronların aksonlarında bir metreden fazla olan ince uzun uzantılarda destek görevi görürler. Nörofilamentlerin ekspresyon seviyesi aksona geçen elektriksel sinyalleri etkileyerek akson çapını kontrol eder. Motor nöron hücre gövdelerinde veya aksonda nörofilamentlerin yanlış birleşmesi veya birikimi **amyotrofik lateral skleroz** hastalığı ile ilişkilidir. **α-İnterneksin:** Nörofilament proteinlerinin sentezinden önce nöron gelişiminin ilk safhalarında sentezlenir.

**5-Nuklear laminler,** nuklear lamina yapısında yer alır. Diğer ara filamentlerden farklı olarak nukleus membranı altında bir ağ şeklinde bulunur. Memelilerde mitozu giden hücrelerde laminler üzerindeki serin amino asidinin geçici olarak fosforilasyonu ile lamin yapısı bozulur ve hücre yeniden interfaza geçtiğinde laminlerin defosforilasyonu ile nukleus membranı yeniden oluşur. Nuklear lamina özelleşmiş lamin A, B, C ara filamentlerinden oluşur. Lamin A mutasyonu (LMNA) **laminopatiler** olarak bilinen hastalığın nedenidir.

**6-Nestin,** nöronların gelişmesi esnasında merkezi sinir sistemi kök hücrelerinde görülür. Çeşitli tip malign tümörlerde glioblastoma, servikal kanser, melanom ve pankreatik kanserde nestin ara filamentinin aşırı ekspresyonu saptanmıştır.

Ara filament mutasyonları ile ilgili insanda ellinin üzerinde hastalık bilinmektedir. Tümörlerde ara filamentlerin özel bir tipinin bulunması hastalığın teşhis ve tedavisinde önemlidir. Desmin kas dokusundan orijinlenen sarkomlarda, vimentin lenfoma ve kas orijinli olmayan sarkomda, keratin yassı hücreli karsinom ve adenokarsinomlarda, glial fibriler asidik protein gliyoma tümör tipi ile ilişkilidir. Bu şekilde kanser hücrelerinin hangi dokudan orijin aldıkları da saptanır ve ona uygun tedavi yapılır.<sup>11-16</sup>

**Klinik Önemi**

Mikrotübül inhibitörü olarak taksol meme, ovaryum gibi çeşitli kanser tedavilerinde kullanılmaktadır.

Aktin mikrofilamentini ekstraselüler matrikse bağlayan distrofin protein eksikliği Duchenne kas distrofi nedenidir.

Tümörlerde ara filamentlerin özel bir tipinin bulunması hastalığın teşhis ve tedavisinde önemlidir. Örneğin, keratin ara filamentleri yassı hücreli karsinom ve adenokarsinomlar ile ilişkilidir.

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Declaration of Interests:** The author declares that she has no competing interest.

**Kaynaklar**

- Mani N, Wijeratne SS, Subramanian R. Micron-scale Geometrical Features of Microtubules as Regulators of Microtubule Organization. *Elife*. 2021; 11;10:e63880. [\[Crossref\]](#)
- Florian S, Mitchison TJ. Anti-Microtubule Drugs. *Methods Mol Biol*. 2016;1413:403-21. [\[Crossref\]](#)
- Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach*. 8<sup>th</sup> Ed. New York, Sinauer Associates, 2019.
- Alberts B, Heald R, Johnson A, et al. *Molecular Biology of the Cell*. 7<sup>th</sup> Ed. New York: W. W. Norton & Company, 2022.
- Pollard TD, Earnshaw WC, Lippincott-Schwartz J, Johnson GT. *Cell Biology*. 3<sup>rd</sup> Ed. Philadelphia, Elsevier, 2017.
- Hardin J, Bertoni G. *Becker's World of the Cell*. 9<sup>th</sup> Ed. England, Pearson Education Limited, 2018.
- Lodish H, Berk A, Kaiser C, et al. *Molecular Cell Biology*. 9<sup>th</sup> Ed. Macmillan Learning, 2021.
- Meshram NR, Tumane RG, Jawade AA, et al. Significance of Actin Bundling Protein in Hearing: An Update. *Adv Biores*. 2019;10(3): 13-18.
- Chinowsky CR, Pinette JA, Meenderink LM, Lau KS, Tyska MJ. Non-muscle Myosin-2 Contractility-Dependent Actin Turnover Limits the Length of Epithelial Microvilli. *Mol Biol Cell*. 2020;31(25): 2803-15. [\[Crossref\]](#)
- Jiang X, Qin Y, Kun L, Zhou Y. The Significant Role of the Microfilament System in Tumors. *Front Oncol*. 2021; 17;11:620390. [\[Crossref\]](#)
- Hohmann T, Dehghani F. The Cytoskeleton-A Complex Interacting Meshwork. *Cells*. 2019;8(4): 362. [\[Crossref\]](#)
- Herrmann, Aebi U. Intermediate Filaments: Structure and Assembly. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2016;8(11): a018242. [\[Crossref\]](#)
- Jones JC, Kam CY, Harmon RM, Woychek AV, Hopkinson SB, Green KJ. Intermediate Filaments and the Plasma Membrane. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2017;9(1): a025866. [\[Crossref\]](#)
- Kierszenbaum AL, Tres LL. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*. 5<sup>th</sup> Ed. USA, Elsevier, 2020.
- Sjöqvist M, Antfolk D, Suarez-Rodriguez, Sahlgren C. From Structural Resilience to Cell Specification-Intermediate Filaments as Regulators of Cell Fate. *FASEB J*. 2021;35(1): e21182. [\[Crossref\]](#)
- Iwasa J, Marshall W. *Karp's Cell & Molecular Biology*. 9<sup>th</sup> Ed. Wiley, 2020.

**BÖLÜM 12**  
**HÜCRE DÖNGÜSÜ VE KONTROL**  
**MEKANİZMALARI**

# Hücre Döngüsü ve Kontrol Mekanizmaları

## Cell Cycle and Control Mechanisms

### BÖLÜM HAKKINDA

Hücre döngüsü, interfaz ( $G_1$ , Sentez, $G_2$ ) ve mitoz olarak iki ana aşamaya ayrılır. Çok hücreli organizmalar tek hücre zigottan mitoz bölünmeler ile oluşur. Sentez evresinde replike olan kromozomun iki kopyası yani kardeş kromatidler kohezinerler ile birarada tutulur. Mitozun prometafaz evresi nükleus membranının parçalanması ile başlar. Kardeş kromatid ayrımı anafazda ilerletici kompleks aktivasyonunu gerektirir. Hayvan hücrelerinde kontraktıl halka geç anafazda aktin, miyozin II ve çeşitli proteinlerden oluşmaya başlar. Hücre döngüsünün kontrolü siklin ve sikline bağımlı kinazlara dayalı bir mekanizmadır.

**Anahtar kelimeler:** İnterfaz, mitoz, hücre döngüsünün kontrolü

### ABOUT the CHAPTER

The cell cycle is divided into two main phases, interphase ( $G_1$ , Synthesis,  $G_2$ ) and mitosis. Multi-cellular organisms are formed by mitosis from a single cell zygote. In the synthesis phase, two copies of the replicating chromosome, namely sister chromatids, are held together by cohesins. Prometaphase stage of mitosis begins with the breakdown of the nuclear membrane. Sister chromatid segregation requires activation of the anaphase-promoting complex. In animal cells, the contractile ring begins to form from actin, myosin II and various proteins in late anaphase. The control of the cell cycle is a mechanism based on cyclins and cyclin-dependent kinases.

**Keywords:** Interphase, mitosis, control of the cell cycle

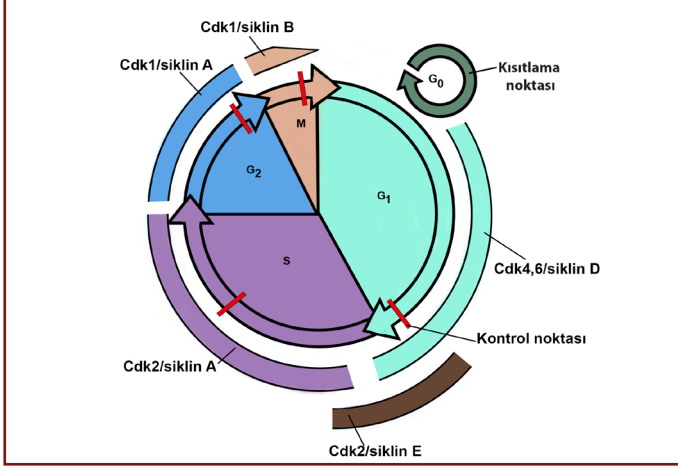
## Hücre Döngüsü

Hücrenin bir bölünme sonundan diğer ikinci bölünme sonuna kadar geçen devrine **hücre döngüsü** adı verilir (Şekil 1). Hücre döngüsünün süresi farklı hücrelerde değişir: Kültürde hızla çoğalan bir insan hücresinin toplam hücre döngüsü ~24 saattir. Bir maya türünde toplam hücre döngü süresi 90 dakikadır. Mayalarda hücre döngüsü esnasında nükleus membranı kaybolmaz. *Schizosaccharomyces pombe* (bölünen maya) her iki ucundan uzayarak büyür ve hücrenin ortasında bir duvar oluşturarak bölünürler fakat sitokinez  $G_1$ 'de gerçekleşir. *Saccharomyces cerevisiae* (tomurcuklanan maya)'da mitotik iğ sentez (S) evresinde oluşmaya başlar,  $G_2$  evresi içermez, tomurcuklanma ile oluşan yavru hücreler küçüktür o nedenle bölünme öncesi  $G_1$  daha uzun sürer.

**$G_1$  evresinin** belirli bir noktasında hücreler büyüme faktörleri yokluğunda,  **$G_0$**  yani sessiz (quiescent) evreye geçerler.  $G_0$  evresindeki hücreler metabolik olarak daha az protein sentezi ve salgılama ile aktifdirler.  $G_0$  evresinde hücrelerin mitoz bölünmeye mi devam edecekleri yoksa sürekli  $G_0$  evresinde mi kalacaklarına karar verilir. Hücreler üç şekilde  $G_0$  fazına girerler: 1-Hücre döngüsünden çıkıp farklılaşma yönünde dış uyaran alırlar. 2-Çoğalma için uyarı almayan hücrelerin bazıları apoptoza giderken, bazıları da  $G_0$  fazına girerler. 3-Kültür şartlarında hücrelerin belirli bir bölünme kapasiteleri vardır. Bu sayıya erişildiğinde hücreler bölünmenin olmadığı sadece yaşamsal faaliyetlerin sürdürüldüğü  $G_0$  fazına girerler. Hücreler kromozomların telomerlerinin kısaldığı durumda yine  $G_0$  fazına girerler. Büyüme faktörleri veya diğer hücre dışı sinyaller örneğin, besinler ile  $G_0$ 'dan tekrar  $G_1$  evresine dönen yani kısıtlama noktasını geçen hücreler normal hücre döngüsüne devam ederler. Dış uyaranlar hücre çoğalmasını engellediğinde çoğu hücre apoptoza giderken bazıları  $G_0$  evresine geçer.  $G_1$ 'den  $G_0$ 'a geçişte gelen dış sinyal örneğin, TGF- $\beta$ , sikline bağımlı kinaz (Cdk) inhibitörlerinin sentezine neden olarak döngüsünün  $G_0$ 'da kalmasına neden olur.

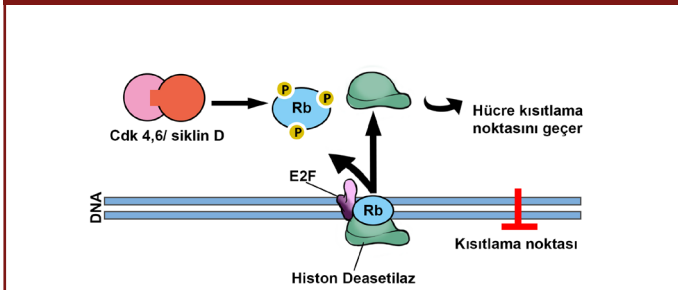


**Şekil 1.** Hücre döngüsünün interfaz (G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>) ve mitoz (M) evrelerinde kontrol noktaları



*Kısıtlama (restriction) noktasının düzenlenmesi, retinoblastoma (Rb) tümör baskılayıcı protein ve E2F olarak bilinen transkripsiyon faktör ailesi proteinleri varlığında olur. Mitojenlerin yokluğunda, histon deasetilasyonu hücre döngüsünü ilerletecek genlerin transkripsiyonunu baskılar. Hücre döngüsü ve DNA replikasyon proteinleri sentezlenemez. Büyüme faktörleri ise Ras/MAP-kinaz sinyal yolu aracılığı ile D tipi siklinleri uyararak döngünün G<sub>1</sub> kısıtlama noktasından çıkmasını sağlarlar. Mitojenlerin varlığında, Cdk4/6-siklin D ile Rb fosforilasyonu sonucu histon asetilasyonu ile hücre G<sub>1</sub> kısıtlama noktasını geçerek döngüye devam eder. Fosforillenmiş Rb aktif olmayan halde iken histon asetilasyonu ile hücre döngüsü genlerinin (siklinler, Cdk'lar) ve DNA replikasyon genlerinin transkripsiyonu başlar. Hücre mitozdan G<sub>1</sub> evresine geçerken Rb defosforile olur (Şekil 2).*

**Şekil 2.** Retinoblastoma (Rb) fosforillenmesi ile hücre kısıtlama noktasını geçer



Çok hücreli organizmalar bir tek hücre zigottan mitoz bölünmelerle oluşurlar.

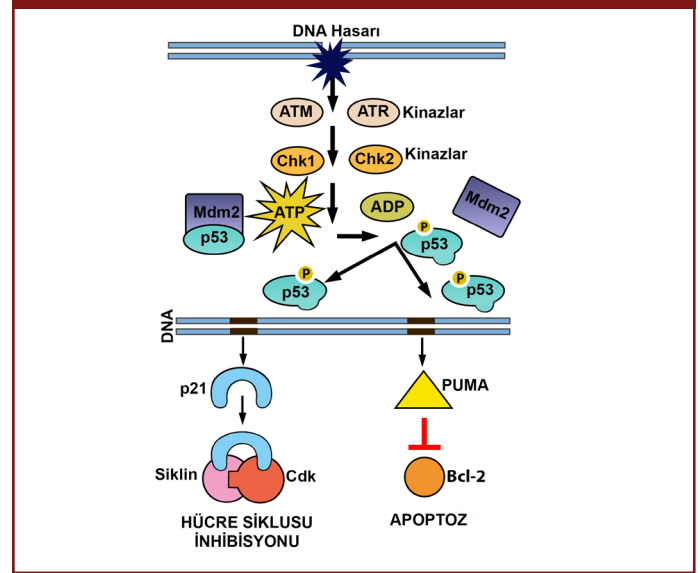
Zigotun ilk bölünmelerinde hücre döngüsü 30 dakika veya daha kısadır. Blastomerlerin erken embriyonik hücre döngüsünde G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> evreleri yoktur. G<sub>1</sub> evresi ökaryotik hücrelerde 10-11 saat sürer. G<sub>1</sub> evresi kontrolünde Cdk 4/6-siklin D iş görür. **G<sub>1</sub> kontrol noktası**, DNA hasar kontrolü ile çevresel etkenlerin kontrolü yanı sıra G<sub>0</sub>'da kalma süresini düzenleyen **kısıtlama noktası** ile birlikte sentez (S) evresine geçişi kontrol eder. Çoğu kanser hücrelerinde bu iki kontrol noktası kaybolmuştur. DNA'da hasar meydana gelmişse G<sub>1</sub> kontrol noktası ile hasar tamir edilinceye kadar hücrenin S fazına geçişi durdurulur. **S kontrol noktasında**, DNA'da hasar olup olmadığı kontrol edilir. **G<sub>2</sub> kontrol noktasında** ise genomun

tümüyle doğru replike olup olmadığı ayrıca sentrozom duplikasyonun tamamlanıp tamamlanmadığı kontrol edilir. **Metafaz-Anafaz (M) kontrol noktasında**, kardeş kromozomların hücrelere eşit miktarda dağılıp dağılmadığı kontrol edilir.

G<sub>1</sub> kontrol noktası p53 proteini ile düzenlenir: p53, Mdm2 (Mouse double minute 2) olarak adlandırılan ubiquitin ligazla sağlıklı hücrede birleşerek p53 yıkımına neden olur.

DNA hasarında ise ATM/ATR ve Chk1/Chk2 protein kinazların aktivasyonları ile fosforillenmiş p53'e Mdm2 bağlanamaz ve p53 aktifleşir. Artan p53, p21(Cdk inhibitör protein) gen transkripsiyonuna neden olur. p21 ile Cdk inhibisyonu hücreyi G<sub>1</sub>'de durdurur veya apoptoz ile hücre ölümüne neden olur (Şekil 3).

**Şekil 3.** DNA hasarında p53 proteinin rolü



Hücre döngüsünün G<sub>1</sub>'de durması replikasyondan önce hasarlı DNA'nın onarılmasına olanak sağlar. DNA hasarı onarılamadığı zaman aktif p53 apoptozda önemli bir proapoptotik protein olan PUMA (p53 ile regüle edilen apoptoz düzenleyicisi) ile Bcl-2 inhibisyonu sonucu hücreyi apoptoza yönlendirir.

**Sentez evresi** ökaryotik hücrelerde genellikle ~8 saat sürer. RNA sentezi G<sub>1</sub>'deki gibi devam eder, protein sentezi ise en yüksek seviyededir. Histonlar sitoplazmada sentezlenip nükleusa taşınırlar. Yeni nükleozom oluşumu için DNA replikasyonu ve protein sentezi eş zamanlıdır. DNA replikasyonu ile DNA miktarı iki katına çıkar (2n → 4n). Mitokondri DNA sentezi ise interfaz boyunca gerçekleşir. S evresine ait hücrelerin nükleusunda replike olan DNA, <sup>3</sup>H-timidin kullanılarak otoradyografi ile veya floresan bromodeoksiüridin (BrdU) antikortarı kullanılarak floresanla aktifleşen hücre ayırıcısı (FACS) yöntemi ile saptanabilir. S evresinde replike olan kardeş kromatidler **kohezinerler** ile birarada tutulurlar. Sentriyol sentez evresinde iki katına çıkar. Sentez fazına girişte **Cdk2-siklin E** veya **Cdk2-siklin A** kinazların fosforilasyonuna ihtiyaç vardır. Başlangıç noktası tanıma kompleksi (ORC) döngü boyunca replikasyon başlangıç noktalarına bağlı kalır. G<sub>1</sub> evresinde ön replikasyon kompleksi (ORC+Cdc6+Mcm+Cdt1) replikasyon orijinlerine bağlandığında kromozomlar gelecek G<sub>1</sub> evresine kadar değişir buna tanımlama (licensed) denir. Böylece hücre döngüsünde kromozomun herhangi bir bölgesinin iki kez replikasyonu önlenmiş olur.

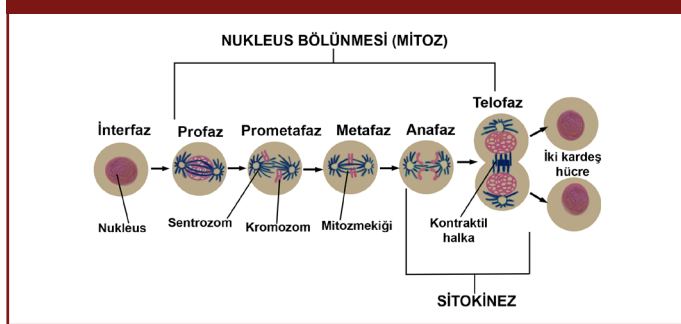
**G<sub>2</sub> evresi** ~4 saat kadar sürer. G<sub>2</sub> evresinde sentrozom duplikasyonu tamamlanarak iki çift sentriyol bulunur. RNA ve protein sentezi devam eder. G<sub>2</sub> evresinde mitoz bölünme sırasında gerçekleşecek olaylar için hazırlıklar yani nükleus membranının parçalanması, nükleolusun kaybolması, kromatinin yoğunlaşması ve kromozomlara değişimi için gerekli olan yeni proteinlerin sentezlenmesi sürer. İnterfaz süresini tamamlayan hücre mitoz bölünmeye girer.

Hücre döngüsünün kontrolü ile ilgili faktörleri ikiye ayırabiliriz. 1- Hücre dışı faktörler, büyüme faktörleri gibi çevresel faktörler. 2- Hücre içi faktörler ise onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerdir. Hücre döngüsü kontrol sistemi protein-kinazlara dayalı bir mekanizmadır. Mayalarda hücre döngüsü ile ilgili olan Cdk genine *cdc2* adı verilmiştir. Bu genin ürünü 34 kDalton ağırlığında protein kinaz aktivitesine sahip bir proteindir (p34). Buna karşılık omurgalılarda G<sub>1</sub>-Cdk, G<sub>1</sub>/S-Cdk, S-Cdk ve M-Cdk olmak üzere dört çeşittir. Bu enzimlerin aktiviteleri siklin tarafından kontrol edildiği için bu enzimlere **sikline bağımlı kinaz (Cdk)** denir. Ökaryotların hücre döngüsünde G<sub>1</sub> kontrol noktasında *Cdk4,6 /siklin D kompleksi*, G<sub>1</sub>-S geçişi ve DNA sentezinin başlaması *Cdk2/siklin E*, sentez fazı ilerlemesi *Cdk2/siklin A*, G<sub>2</sub>-M geçişi *Cdk1/siklin A* ile kontrol edilir. **Mitoz (M)** evresinde ise *Cdk1/siklin B (MPF)* kompleksi iş görür. **Siklinler** hücre döngüsü boyunca miktarı ve tipi değişen düzenleyici görevi olan proteinlerdir. Her döngüde yeniden sentezlenirler. Omurgalılar başlıca siklinleri *Siklin D* (G<sub>1</sub> siklin) kısıtlama noktasında geçişi sağlarlar. *Siklin E* (G<sub>1</sub>/S siklin) G<sub>1</sub>'in sonunda hücreyi replikasyona yönlendirir. *Siklin A* (S siklin) replikasyonun başlaması için gereklidirler. *Siklin B* (M siklin) mitoz olaylarını başlatırlar. Mitotik siklinler metafazdan anafaza geçişte yıkılır.<sup>1-8</sup>

## Mitoz Bölünme

Mitoz evreleri **profaz, prometafaz, metafaz, anafaz ve telofaz** olarak nükleus bölünmesini takiben sitoplazma bölünmesi olan **sitokinez** şeklinde 6 evrede incelenebilir. Her evrenin erken ve geç evreleri tanımlanırken erken anafaz yerine anafaz A, geç anafaz yerine anafaz B isimlendirmesi kullanılır (Şekil 4).

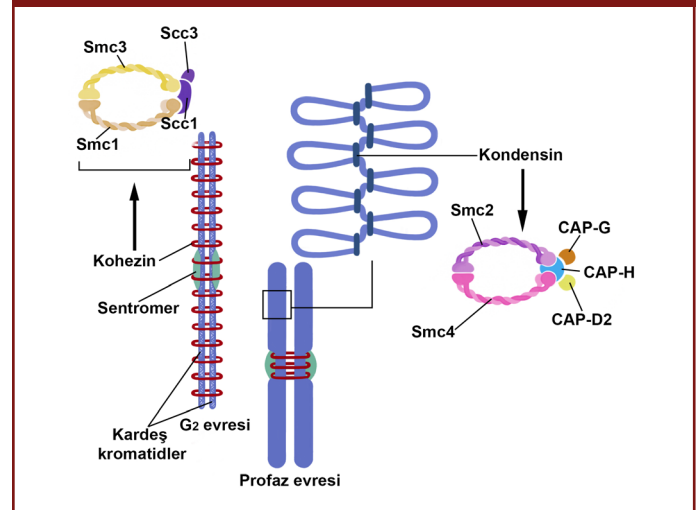
Şekil 4. Ökaryotik hücre bölünme evreleri



**Profaz** evresinde duplike olan sentriyoller iki kutba doğru ayrılmaya başlar. Aster mikrotübülleri oluşur. Profaz evresinde beş alt üniteli kompleks bir protein olan kondensin aracılığı ile DNA katlanmaları başlar. **Kondensin** molekülünün iki ana alt ünitesi Smc2 ve Smc4 ile kondensin ile ilişkili proteinler (CAP) olarak üç alt ünite CAP-G, CAP-H, CAP-D2 **kromozom yoğunlaşmasında** iş görür. Sitoplazmada bulunan fosforile kondensin nükleusa geçer ve histon 3 fosforilasyonu başlar. **Kohez**in kompleksinin dört alt ünitesinden Smc1 ve Smc3 alt ünitelerinin ATPaz uçları diğer iki

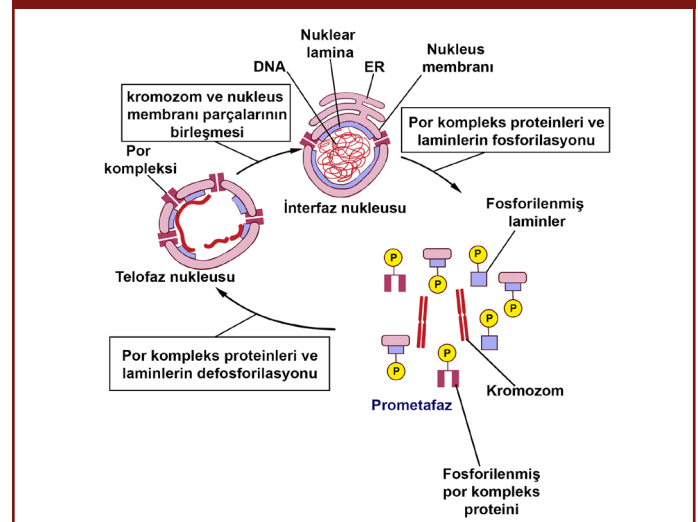
alt ünite olan Scc1 ve Scc3 ile kardeş kromatidleri birarada tutar. Hücre mitoz bölünmeye girdiğinde kondensinler Aurora B kinaz ve Cdk1 tarafından, koheziner Aurora B kinaz ve Polo-like kinazlar tarafından fosforillenirler. **Cornelia de Lange Sendromu (CdLS)** Smc1 veya Smc3 koheziner alt ünitelerinde meydana gelen bir mutasyon sonucu oluşabilir (Şekil 5)

Şekil 5. Koheziner ve kondensin molekülleri



**Prometafaz** evresi yoğunlaşmış kromozom kinetokorlarının her bir kutuptaki mikrotübüllerle bağlanması ve nükleus membranının parçalanması ile başlar (Şekil 6).

Şekil 6. Nükleus membranının prometafaz evresinde parçalanması ve telofazda yeniden oluşumu



Nükleus membran yıkımı tam olarak bilinmese de nüklear laminlerin, nüklear por kompleks ve nüklear iç membran proteinlerinin fosforilasyonu ile tetiklendiği düşünülmektedir. Nükleus iç membranı ile kromatin arasında yer alan nüklear lamina tabakası glikoprotein yapısındadır. Nüklear laminanın esas yapısını oluşturan lamin adlı proteinin A, B, C tipleri bulunur. Mitozda aktifleşen Cdk1 ve muhtemelen diğer kinazlar üç tip laminin serin kalıntısını fosforlar, bu da lamin dimerlerinin oluşmasına neden olur. Ekstraselüler **matriks proteazları** da nükleus yıkımında rol oynar. Prometafazda kutuptan uzayan mikrotübüller kromozomu

yakalar. Kinetokorla ilişkili motor protein **dinein-dinaktin kompleks** ile kromozomlar kutba doğru çekilirken kromozom diğer kutuptan uzanan mikrotübül ile yakalanır. Kromozom kollarının merkeze doğru bakması, mikrotübülün (+) ucuna doğru hareket eden **kinezin 4** motor proteini sayesinde. Mikrotübülün kısalan tarafında **kinezin 13** proteini mikrotübülün depolimerizasyonunu uyarır. Prometafazda mitoz mekik yapısı tamamlanır.

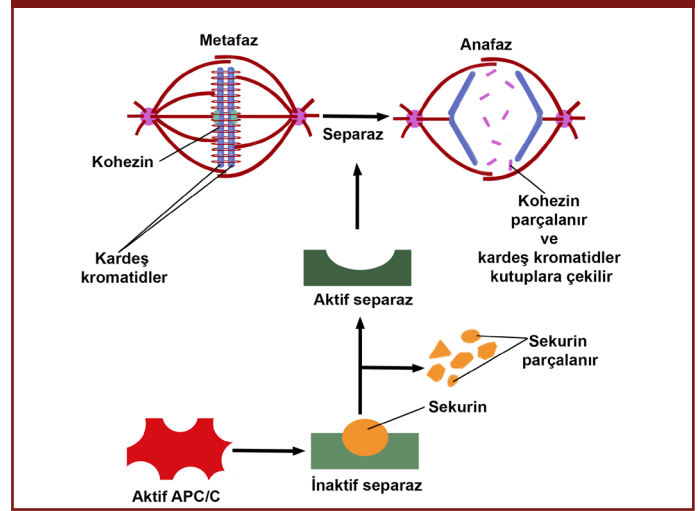
Mitoz mekiğinde *aster*, *kinetokor*, *polar* ve *kromozom* olmak üzere dört çeşit mikrotübül bulunur. Aster mikrotübülleri, sentrozomdan çıkan bu iğ ipliklerinin kutupları ayıran güç merkezleri olduğu düşünülmektedir. Kinetokor mikrotübüller ise kutup bölgesi ile kinetokor arasında bulunurlar ve kinetokora tutunurlar. İnsan kinetokoruna 20-40 mikrotübül bağlanırken maya ve diğer mikroorganizmaların kinetokoruna bir mikrotübül bağlanır. Polar mikrotübüller, bir kutuptan çıkıp mitoz mekiği üzerinde bir yerde sonlanırlar. Bu mikrotübüllerin (-) uçları kutup ile bağlantılı olup (+) uçları serbest bulunur. Kromozom mikrotübülleri, kutuptan çıkıp kromozomun bir kolu üzerinde sonlanırlar.

Mitoz bölünmenin en uzun evresi olan **metafaz**da kromozom kolu üzerindeki kinezinler kromozomların metafaz plağında toplanmalarını sağlarlar. Metafaz esnasında kromozomlar bir kutuptan diğerine çeşitli küçük hareketler yaparlar. Hem motor proteinlerin aktif hareketleri hem de kinetokor mikrotübüllerin uzunluğundaki değişiklikler metafaz evresindeki kromozom salınımlarına katkıda bulunur. Metafaz evresinde iğ iplikleri yapısında (-) uca yönelmiş **dinein** motor proteinleri kromozomları kutba doğru çeker. Kutuplarda **kinezin 13** ile mikrotübül yıkımı, kinetokor mikrotübüllerin uzunluğundaki değişikliklere ve kromozomların küçük salınımlar yapmasına neden olur. Kromozom kolu üzerindeki bipolar **kinezin 5** motor proteinleri, mikrotübülün (+) ucuna doğru hareket eder ve kromozomu kutuptan ekvatora iterken diğer dengeyi sağlayacak **kinezin 14** mikrotübülün (-) ucuna doğru hareket ederek kutba doğru çekerler. Böylece metafaz evresinde kuvvetler dengede olduğundan mitoz mekiğinin boyu sabittir.

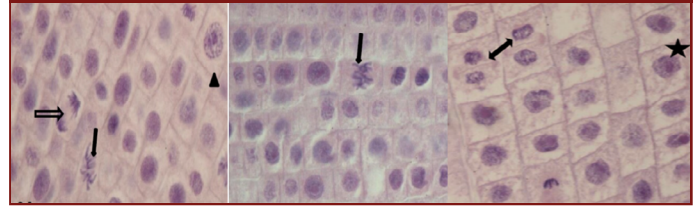
Kardeş kromatid ayrımı **anafaz ilerletici kompleks (APC)** aktivasyonunu gerektirir. APC, metafazdan anafaza geçerken siklin B'nin yıkılmasını sağlar. Metafaza kadar yoğun iş gören Cdk1-siklin B yerini metafazdan sonra siklini yıkan APC/Siklozom (C)'a bırakır. Metafazdan anafaza geçiş Cdk1 aktivitesindeki ani bir düşüşle tetiklenir. DNA topoizomeras II enzimi kardeş kromatid ayrımı için gereklidir. Anafaz, kardeş kromatidleri birarada tutan kohezin bağlantılarının aniden proteolitik ayrılması ile başlar. İki kardeş kromatid ayrılmadan önce kinetokor iğ ipliği uygun bağlanmamışsa hücre döngüsü kontrol sistemine negatif sinyal göndererek cdc20-APC/C aktivasyonunu bloke eder. Kardeş kromatid ayrımında APC/C'nin hedefi **sekurin** proteindir. Sekurin separaz olarak adlandırılan proteazı serbestleştirir. Metafaz sonunda sekurin harabiyeti ile aktifleşen defosforile separaz kohezin kompleksinin alt ünitelerinden (**Scc1**) ayrılması ile kardeş kromatidleri ayırır. Kardeş kromatidlerin zıt kutuplara doğru çekilmesi ile anafaz A başlar. **Anafaz A** evresinde, kinetokor mikrotübül kısalması **kinezin 13** ile gerçekleşir. **Kinezin 4** sayesinde kromozom kolları kutup yönünün tersi yönündedir. Mikrotübül yıkım kuvvetinin kromozomları merkeze çeken kuvvete üstün gelmesi ile kromozomlar kutba doğru çekilir. Aynı zamanda iki iğ kutbu da ayrılır (Anafaz B). **Anafaz B** evresinde, polar mikrotübüller **kinezin 5** ile (+) uca doğru kayar ve mitoz mekiği uzar. **Dinein-dinaktin kompleksi** aster mik-

rotübüllerine dış çekme kuvveti uygular (Şekil 7).

Şekil 7. Anafazda kardeş kromatid ayrımı



Şekil 8. Soğan kök ucu hücrelerinde mitoz evreleri Hematoksilen & Eosin boyası ile görülmekte. İnterfaz (yıldız), profaz (ok başı), metafaz (ok), anafaz (içi boş ok), telofaz (çift başlı ok), X40.



**Telofaz** evresinde kinetokor mikrotübülleri kaybolur. Anafaz esnasında oluşmaya başlayan nukleus membranı telofaz evresinde tamamlanır (Şekil 8). Nuklear laminayı yeniden oluşturmak için defosforile laminler ile nukleus por kompleksleri de membran ile birleşirler. Defosforile olan nukleus por alt üniteleri birleşerek *karyomer* olarak adlandırılan mini nukleusları oluştururlar. Her bir kutupda bütün karyomerler nukleus membranı ile birleşir ve şeklini kaybeden kromozomlarla birlikte yeni nukleusu oluşturur. Nukleus membranı tekrar endoplazmik retikulumun yoğun membran keseleriyle birlikte sarılır. Anafazda hücre membranının içe doğru boğumlanması ile bir *çöküntü* (cleavage furrow) oluşur. Bu çöküntü kontraktıl halkanın olduğu yeri belirleyerek her iki yavru hücreye tam kromozom setinin gitmesini sağlar. Nukleus membranının tekrar oluşmasında nukleus porlar aracılığıyla laminlerin taşınması gerçekleşmezse, sitokinez takiben kromozomlar G<sub>1</sub> fazını tamamlayamazlar. Nukleolus proteinlerinin defosforilasyonu ile nukleolus tekrar belirir. Yeni bir nukleus oluştuğu zaman mitoz tamamlanır.

Mitoz bölünme sonucu oluşan nukleus bölünmesini **sitokinez** izler. Cdk1-siklin B aktivitesi sitokinezin zamanını ayarlar ama mekanizması tam olarak bilinmiyor. İki kardeş hücre arasında düzensiz dizilmiş mikrotübüllerden ve matriksden kaynaklanan yoğun bir tepecik vardır. Bu **orta cisimcik** olarak adlandırılır. İki kardeş hücre tamamen ayrıldıktan sonra orta cisimcik kalıntıları genellikle hücre membranının iç tarafında kalır ve bunlar bir sonraki bölünmede mitoz mekiğinin yönünün belirlenmesinde rol



oynayabilirler.

Tipik bir hücrede her mitoz bölünmeyi sitokinez takip etmesine rağmen örneğin, erken *Drosophila* embriyoları sitokinez olmadan mitoz bölünme geçirdiklerinden çok nükleuslu olurlar. Hayvan hücrelerinde geç anafazda **kontraktil halka** aktin, miyozin II ve çeşitli proteinlerden oluşur. Yüksek yapılı bitki hücreleri sentrozom içermezler fakat perisentriyoler bölgede bulunan çok sayıda protein iş görür ve iğ iplikleri oluşur. Ayrıca profaz evresinde hücrenin ekvator bölgesinde mikrotübüller ve aktin filamentleri ile bir band oluştururlar. Preprofaz band olarak adlandırılan bu yapı hücre prometafaza girerken kaybolur. Bitki hücrelerinde **fragmoplast** mikrotübüller, aktin filamentleri, Golgi ve endoplazmik retikulumdan kökenlenen keseciklerden oluşur.<sup>1-6, 9-14</sup>

#### Klinik Önemi

Cornelia de Lange sendromunda belirgin fenotipik özelliklerin yanı sıra mental ve gelişimsel gerilik görülmesinin nedeni, Smc1 veya Smc3 veya kohezin halkasının alt ünitelerinden bir deasetilaz olan HDAC8 veya kohezin düzenleyici NIPBL'de meydana gelen bir mutasyon olabilir.

Paklitaksel (taksol) mikrotübüllere bağlanarak hücre bölünmesini durdurur. Taksol çeşitli kanserlerde antimitotik ilaç olarak kullanılan kemoterapötiktir.

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Declaration of Interests:** The author declares that she has no competing interest.

#### Kaynaklar

1. Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach*. 8<sup>th</sup> Ed. New York, Sinauer Associates, 2019.
2. Alberts B, Heald R, Johnson A, et al. *Molecular Biology of the Cell*. 7<sup>th</sup> Ed. New York: W. W. Norton & Company, 2022.
3. Pollard TD, Earnshaw WC, Lippincott-Schwartz J, Johnson GT. *Cell Biology* 3<sup>rd</sup> Ed. Philadelphia, Elsevier, 2017.
4. Hardin J, Bertoni G. *Becker's World of the Cell*. 9<sup>th</sup> Ed. England, Pearson Education Limited, 2018.
5. Clark DP, Pazdernik NJ, McGehee MR. *Molecular Biology*. 3<sup>rd</sup> Ed. London, United Kingdom, Academic Press Elsevier, 2019. **[Crossref]**
6. Lewis R. *Human Genetics Concepts and Applications*. 11<sup>th</sup> Ed. New York, McGraw-Hill Education, 2015.
7. Iwasa J, Marshall W. *Karp's Cell & Molecular Biology*. 9<sup>th</sup> Ed. Wiley, 2020.
8. Chatre L, Ricchetti M. Prevalent Coordination of Mitochondrial DNA Transcription and initiation of Replication with the Cell Cycle. *Nucleic Acids Res*. 2013;41(5): 3068-78. **[Crossref]**
9. Isermann P, Lammerding J. Nuclear Mechanics and Mechanotransduction in Health and Disease. *Curr Biol*. 2013;23(24): R1113-21. **[Crossref]**
10. Petsalaki E, Zachos G. DNA Damage Response Proteins Regulating Mitotic Cell Division: Double Agents Preserving Genome Stability. *The FEBS Journal*. 2020;287(9): 1700-21. **[Crossref]**
11. Reece JB, Taylor MR, Simon EJ, Dickey JL, Hogan K. *Campbell Biology: Concepts & Connections*, 8<sup>th</sup> Ed. Pearson Education Limited, 2016.
12. Visconti R, Monica RD, Grieco D. Cell Cycle Checkpoint in Cancer: A Therapeutically Targetable Double-Edged Sword. *J Exp Clin Cancer Res*. 2016;35(1): 153. **[Crossref]**
13. Li J, Ahat E, Wang Y. Golgi Structure and Function in Health, Stress and Diseases. *Results Probl Cell Differ*. 2019;67: 441-85. **[Crossref]**
14. Gerton JL. Translational Mechanisms at Work in the Cohesinopathies. *Nucleus*. 2012;3(6): 520-25. **[Crossref]**

# **BÖLÜM 13**

## **HÜCRE YAŞLANMASI VE ÖLÜMÜ**

# Hücre Yaşlanması ve Ölümü

## Cell Aging and Death

### BÖLÜM HAKKINDA

Hüresel yaşlanma kısmen genetik olarak programlanmış fizyolojik bir süreçtir. Yaşlanma ile ilişkili salgı fenotipi (SASP) yaşlanma fenotiplerine, kronik hastalıklara katkıda bulunabilir. Apoptoz genler ile düzenlenen, hücrelerin kendilerini programlı olarak yok ettikleri RNA, protein sentezi ve enerjiye ihtiyaç duyulan, fizyolojik veya patolojik koşullarda gözlenen hücre ölüm yoludur. Apoptotik cisimler, nukleus materyali ve organelleri içeren sitoplazmik veziküller olup inflamasyona yol açmazlar. Nekroz, fiziksel ve/veya kimyasal etkenlerle akut hücre hasarı sonucu gelişen patolojik ölüm yoludur. Nekrotik dokuda inflamasyon oluşur. Tümör nekroz faktör gibi inflamasyon sinyalleri kaspazlardan bağımsız hücre ölümü olan nekroptozu indükler. Otofajik hücre ölümü sitoplazmada gelişen bir hücre ölümüdür. Otofaji açlık, büyüme faktör eksikliği, hipoksi şartları, patojenler gibi çeşitli sinyallerle tetiklenebilir. Piroptoz, patojenler ile uyarılan inflamatuvar kaspaz bağımlı hücre ölüm yoludur.

**Anahtar kelimeler:** Yaşlanma, apoptoz, nekroz, nekroptoz, otofaji

### ABOUT the CHAPTER

Cellular aging is a partially genetically programmed physiological process. Aging-associated secretory phenotype (SASP) may contribute to aging phenotypes and chronic diseases. Apoptosis is a gene-regulated, RNA and protein synthesis and energy-dependent cell death pathway observed under physiological or pathological conditions in which cells programmatically self-destruct. Apoptotic bodies are cytoplasmic vesicles containing nuclear material and organelles and do not cause inflammation. Necrosis is a pathological cell death process that develops as a result of acute cell damage caused by physical and/or chemical factors. Inflammation occurs in the necrotic tissue. Inflammatory signals such as tumor necrosis factor induce necroptosis, which is cell death independent of caspases. Autophagic cell death is a cell death that occurs in the cytoplasm. Autophagy can be triggered by various signals such as starvation, growth factor deficiency, hypoxia conditions and pathogens. Pyroptosis is an inflammatory caspase-dependent cell death pathway induced by pathogens.

**Keywords:** Aging, apoptosis, necrosis, necroptosis, autophagy

Yaşlanma moleküler ve hüresel düzeyde hasar birikimleri ile gelişen bir süreçtir. Hücre yaşlanması DNA hasar tamir mekanizmalarında ve sinyal yollarındaki bozukluklar gibi genetik faktörlerin yanı sıra çevresel faktörlerden oksidatif stres veya proteazom yoluyla yıkımın azalması gibi etkenler sonucu gerçekleşir. Hücre yaşlanmasında DNA hasarının birikmesi ve kromatinin yeniden düzenlenmesi ile apoptoza direnç görülür ve hücre döngüsü geri dönüşü olmayan bir şekilde  $G_0$  veya  $G_1$  evresinde kalır. Yaşlanma zamana bağlı olarak anne karnından başlayarak yaşamın sonuna kadar devam eder. Hücreler çoğu organizmada ölüme neden olacak kadar yaşlanmadan çeşitli sebeplerle ölürler. Bu nedenle hücre yaşlanması, organizma yaşlanmasından ayrı tutulmalıdır. DNA ve mitokondri hasarları, lizozomal değişiklikler, epigenetik ve sinyal ileti değişiklikleri moleküler seviyedeki değişikliklere neden olur. Bunları daha sonra metabolizma, çoğalma gibi fonksiyonel hücre ve doku seviyesindeki değişiklikler izler. Hücre yaşlanmasında normal fonksiyonlar için gerekli işlemlerin yapılmasındaki süre uzar yani hücre metabolizması yavaşlar. Hücrelerin kendilerini yenileme yetenekleri azalır. Telomer boyunun kısalması yaşlılık nedenidir. Biyosentez mekanizmalarındaki hatalar ile sitoplazmada lipofuksin pigment granüllerinin ve metabolizma son ürünlerinin birikmesi hücre yaşlanmasına işaret eder. *Lipofuksin* yaşlanan hücrelerde ağır geçiş metalleri ( $Fe^{2+}/Cu^+$ ,  $Fe^{3+}/Cu^{2+}$ ) ile birleşip reaktif oksijen türleri (ROS) artışına neden olarak sitotoksik etki gösterebilen aktif bir bileşendir. Mitokondrilerdeki dejenerasyonlar, girintili çıkıntılı nukleus membranı ve binuklear yapıda artış görülür. Elektron taşıma zincirindeki bozukluklar, aşırı ROS



üretimi, mitokondri füzyon ve füzyon dengesinin değişimi, enerji dengesinin bozulması ve kalsiyum birikimi gibi mitokondri homeostaz değişiklikleri hücrel yaşlanmaya katkıda bulunur. Memeli yaşlanmasında mitokondri DNA'sında mutasyonlarının birikiminin önemli olduğu gösterilmiştir. Bunun nedeni mtDNA polimerazın hata okuma özelliğinin azalması olabilir. Yaşlanma kemoterapötik ilaçlar, replikatif stres, oksidatif stres gibi farklı stres uyarıcıları tarafından uyarılır.

Hücrel yaşlanma (senesens) sitokinler, kemokinler, ekstraselüler matriks proteazları, büyüme faktörleri ve sinyal moleküllerinin karışımını içeren **yaşlanmayla ilişkili salgi fenotipi** (SASP) üretimi gibi fenotipik değişiklikleri tetikleyen bir stres yanıtıdır. SASP yaşlanmaya bağlı inflamasyona, metabolik düzensizliğe, kök hücre fonksiyon bozukluğuna, yaşlanma fenotiplerine, kronik hastalıklara, geriatik sendromlara ve çabuk iyileşme özelliğinin kaybına katkıda bulunabilir. Ayrıca embriyogenez esnasında hücrel yaşlanma, SASP aracılığıyla dokunun yeniden şekillenmesine katkıda bulunur. Yaşlanma ile ilgili artmış lizozom içeriği olarak  $\beta$ -galaktosidaz aktivitesinin (pH 6) histokimyasal tespiti yaşanan hücrelerin spesifik olarak tanınmasını sağlar.

Hayflick sınırı veya kalori kısıtlaması gibi 300'den fazla yaşlanma teorisi ortaya atılmıştır. Bu teorilerden hiçbiri yaşlanmayı tek başına açıklamaya da birkaçı şöyledir. **I-Genetik saat teorisi:** Hücrenin geçirdiği replikasyon sayısı ile ilgilidir. Bu teoriye göre hücre yaşlanması genetik olarak programlanmıştır. Farklı organizmalarda çeşitli hücrelerin değişik yaşam sürelerine sahip olmalarında genetik farklılıklar ve beslenme farklılıkları yanı sıra farklı replikasyon sayısı da önemlidir. Dr. Leonard Hayflick ve arkadaşları kültürde üretilen memeli hücrelerinin çoğalma kapasitelerinin 40-60 hücre bölünmesi ile sınırlı olduğunu buldular. Bölünme sayısındaki bu kısıtlamaya Hayflick sınırı denilmektedir. Hayflick sınırı, mutasyonlarla ya da viral onkogenlerin ekspresyonu ile atlatılabilir. Tümör özelliği gösteren hücrelerde yaşlanmanın durması ayrıca her organizmaya ait farklı hücrelerin farklı yaşam süreleri genetik saat teorisini desteklemektedir. **II-Telomer- telomeraz teorisi:** Telomer bağımlı replikatif ve stres kaynaklı yaşlanma p53-p21 ve p16-retinoblastoma proteinleri ile düzenlenir. İnsanda tekrarlanan TTAGGG DNA dizileri olan telomerlerin doğumda uzunluğu ~15.000 bp olup, her hücre bölünmesinde 25-200 bp kadar kısalır. Telomeraz, telomer DNA dizisinin sentezi için protein ve ~159 bp RNA kalıbı taşıyan ters transkriptaz benzeri enzimdir. Telomerleri ~10.000 nükleotit çifti kadar uzatır. Telomer boyu ve telomeraz aktivitesi hücrenin kaç kez bölüneceğini tayin eder yani moleküller saat olarak iş görür. İnsan hücrelerinde yaklaşık 100 hücre bölünmesinden sonra telomer uzunluğu kritik noktaya ulaşır ve bölünme durur. Bu olaya replikatif hücre yaşlanması da denir. Bunun sonucunda **hücrel yaşlanma** görülür. Telomer uzunluğunu sabit tutan telomeraz enzimi somatik insan hücrelerinde etkin değildir. Bu nedenle hücre her bölündüğünde telomerler giderek kısalır. Somatik hücrelerin sınırlı sayıdaki bu bölünme kapasitesi, hücreleri kontrolsüz çoğalmaya yani kansere karşı korumaktadır. Normal hücreler belli sayıdaki hücre bölünmesinden sonra yaşlanırken, tümör hücrelerinin %80-90'ında telomeraz aktivitesi vardır ve telomerleri dayanıklıdır. Telomeraz aktivitesi embriyonik hücrelerde, eşey hücrelerinde, hematopoetik kök hücreleri, bağırsak hücreleri gibi sürekli çoğalan hücrelerde ve kanser hücrelerinde etkin olduğundan bu hücreler yaşlanmazlar. Hızlı yaşlanma hastalığı olan progeria ciddi telomer kısalması ve kaybı ile

gözlenir. Laminopatiler grubundan **Hutchinson-Gilford progeria sendromunda** moleküler erken yaşlanma görülür. Nükleer lamina içeriğindeki lamin A 50 amino asitlik delesyon ile progerin olarak hücrede birikir. **III-Yıkıcı hatalar ve hasarlar teorisi:** **1- Gen yapısında ve ekspresyonunda değişiklikler:** Nükleus DNA'sındaki değişiklikler olarak transkripsiyon ve translasyon hataları, delesyon, gen amplifikasyonu, gende yeniden düzenlenme, DNA'nın yapısal düzenlenmesi örneğin, metilasyon hataları sayılabilir. Mitokondri DNA ve enerji metabolizmasında delesyon ve glikoliz yolunda artış gözlenir. **2- Serbest radikaller ile oluşan hasarlar:** Mitokondri elektron taşıma zincirinde, endoplazmik retikulum oksidaz sisteminde, peroksizom ve lizozomun metabolik işlemleri sırasında serbest radikaller üretilir. Antioksidan eksikliği yaşlanmayı hızlandırır. **3- Bilgi aktarımında hatalar:** Mutasyonları, DNA sentez ve tamir mekanizmasındaki hataları, RNA sentezindeki hataları ve protein sentez hatalarını kapsar. Sekizinci kromozomun kısa kolu (8p1211.2) WRN geninde mutasyon görülen **Werner sendromlu** kişilerde DNA helikaz enziminde bir defekt tespit edilmiştir. Bu kişilerde DNA tamiri olamayacağından hızlı yaşlanma görülür. Ayrıca Lamin A/C genindeki mutasyonun patogeneze sorumlu olduğu ileri sürülmüştür. **IV- Lizozom teorisi:** Serbest radikallerin zamanla lizozom zarlarını etkilemesi ile hidrolazlar sitozole çıkarak hücreye zarar verirler. Ayrıca hücrede sindirilmeyen maddelerin birikimi de hücre yaşlanmasına neden olmaktadır. **V- Glikasyon teorisi:** Yaşlanma sürecinde şekerler ile proteinlerin reaksiyona girmesiyle ilerlemiş glikasyon son ürünlerinin (AGE'ler) birikimleri gerçekleşir. AGE'ler çapraz bağlar oluşturarak birçok proteinin yapısını bozarak hücre yaşlanmasına neden olurlar. **VI-İmmün Teorisi:** İmmün sistem vücudun savunma ordusudur. Stres, yanlış beslenme, uykusuzluk gibi etmenler immün sistemin hassas dengesini bozar. Hastalık ve tümörlerin oluşumu kolaylaşır ve yaşlanma hızlanır. Yaşlanma hem doğuştan hem de kazanılmış bağışıklık sistemlerini etkiler. Yaşlanan hücreler tarafından IL-6 ve IL-8 gibi inflamatuvar düzenleyicilerin üretimi hücrel yaşlanmanın başlatılmasında ve sürdürülmesinde önemlidir.<sup>1-8</sup>

## Hücre Ölümü

Çok sayıdaki hücre ölüm yollarından başlıcaları **apoptoz** (programlı hücre ölümü), **nekroz** (hasar yolu ile ölüm), **nekroptoz** (programlı hücre nekroz), **otofaji** ve **piroptoz**'dur. Ayrıca **alkalipnoz**; kanser tedavisinde yeni bir strateji olarak pH bağımlı ölüm yolu, **okseiptoz**; kasap ve inflamasyondan bağımsız ROS'a duyarlı hücre ölüm yolu, **otoz**; otofajiye neden olan peptitler, açlık ve yenidoğan serebral hipoksi-iskemi ile uyarılan hücre ölüm yolu, **ferroptoz**; demir bağımlı lipid peroksidlerin birikimi ile karakterize ölüm yolu, **parthanatoz**; poli-ADP-riboz-polimeraz (PARP) aktivitesine bağlı ölüm yolu, **entoz**; hücre sitoplazmasına giren bir canlı hücre invazyonu ile oluşan ölüm yolu yeni hücre ölüm mekanizmaları olarak sayılabilir. Tek bir zigot hücrelerinden insan vücudundaki 37.2 trilyon hücre oluşur ancak saniyede yaklaşık bir milyon hücre ölür.

**I- Apoptoz (programlı hücre ölümü)** fizyolojik veya nörodejeneratif hastalıklar gibi patolojik koşullarda gözlenen hücre intiharıdır. Yaprak dökümü: Yunanca apo (ayrı) ve ptosis (düşen) anlamında ilk kez Kerr, Wyllie ve Currie tarafından (1972) tarif edilen apoptoz organizmada homeostazı koruyan bir olaydır. Apoptoz genlerle düzenlenen hücrelerin kendilerini programlı olarak yok ettikleri RNA, protein sentezi ve enerjiye ihtiyaç duyulan bir ölüm şeklidir. Apoptoz embriyolojik gelişim esnasında veya ovaryumdaki folikül

atrezi gibi normal fizyolojik süreçlerde gözlenir. Gelişim sürecindeki organizasyonun tamamlanması için hücreler apoptoz geçirir. Örneğin, metamorfoz sırasında kurbağın kuyruğu apoptoz ile ortadan kalkar. Fetusta parmaklar arasındaki perdenin kaldırılması için hücreler apoptoza gider. Organizma kendisi için zararlı hücrelerin ortadan kaldırılmasında apoptozu seçer. Apoptoz geçiren hücrenin özellikleri sırası ile hücre içinden veya dışından gelen ölüm sinyalinin alınması ile kaspazların aktivasyonu, aktifleşen kaspazların hedef proteinleri yıkması, hücre içi yapısal ve biyokimyasal değişimler, apoptotik cisimlerin oluşumu, apoptotik cisimlerin fagositozu ile gerçekleşir. *C. elegans*'da *ced-3* (memeli homoloğu *kaspaz 9*) ve *ced-4* (memeli homoloğu *apoptotik proteaz aktifleştirme faktörü-1* [Apaf-1]) apoptoz için tanımlanan başlıca (**proapoptotik**) genlerdir. *Ced-9* ilk memeli homoloğu olarak **Bcl-2 (antiapoptotik)** tanımlandı. DNA hasarı onarılamadığı zaman aktifleşen p53 apoptozda önemli bir protein olan PUMA ile antiapoptotik protein olan Bcl-2'nin inhibisyonu sonucu hücre apoptoza gider.

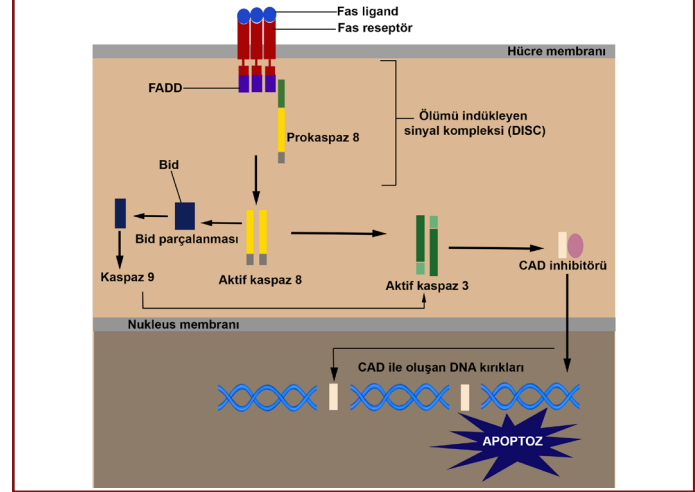
Kimyasal bir madde ile oluşan DNA hasarı giderilememişse, kimyasal madde ile mitokondri hasarı olmuşsa sitokrom c mitokondri dışına çıkarak kaspazları uyarırsa, hücrenin enerji metabolizması bozulmuşsa, hücrenin antioksidan sistemi hasarlanmışsa, yaşlanma ile ilgili gen ekspresyonu uyarılmışsa **apoptotik sinyal** oluşur. **Apoptotik cisimler** hücre parçalanmadan önceki son yapılar olarak nükleus materyali ve organelleri içeren sitoplazmik veziküllerdir. Transglutaminazlar sitozoldeki proteinler arasında glutamil-lizin bağları kurarak apoptotik cisimlerin oluşmasında iş görürler. Apoptotik cisimler fagositik hücreler tarafından hızlı bir şekilde ortadan kaldırılır. Böylece apoptotik cisimler inflamasyona yol açmazlar. Apoptotik hücre ölümü üç ana molekül içerir. 1) *Bcl-2* (*B cell Lymphoma/leukemia-2*) ailesi proteinleri: **A**-Bcl-2 alt ailesi (antiapoptotik/pro-survival): Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W, Mcl-1, Bfl-1, Bcl-B. **B**-Bax alt ailesi (proapoptotik): Bax, Bak ve Bok. **C**-BH3 alt ailesi (proapoptotik): Bad, Bid, Bik, Blk, Hrk, BNIP3 ve BimL. 2) *Kaspazlar* (*Sistein aspartil proteazlar*): **A**-Başlatıcı kaspazlar (Kaspaz 2,8,9,10), **B**-Etkili (Efektör) kaspazlar (Kaspaz 3,6,7), **C**-İnflamatuvar kaspazlar (Kaspaz 1,4,5,11,12,13,14). 3) *Apoptotik proteaz aktifleştirme faktörü-1* (*Apaf-1*).

Nöronlar için büyüme faktörlerinin, lenfositler için IL-2, IL4, IL5 ve IL7'nin eksikliği gibi pozitif uyarıların kesilmesi veya hücre yüzey reseptörlerine bağlanan Fas ligandı, TNF molekülleri, kemoterapi ajanları, ultraviyole, X-ışınları gibi negatif uyarıların alınması ile hücre apoptoza karar verir. Programlı hücre ölümünde sitoplazma yoğunlaşması ile hücre küçülür ve büzülür. Hücre membranı büzülerek kıvrıntılı görünür. Komşu hücreler ile bağlantılar kopar ve tek hücre apoptoza gider. Hücre iskeleti parçalanır. Hücre içi  $Ca^{2+}$  konsantrasyonu artar. DNA,  $Mg^{2+}$  ve  $Ca^{2+}$  bağlı endonükleazlar ile 180-200 bç veya katları olarak kesilir, jel elektroforezinde merdiven şeklinde bandlar elde edilir. Nükleusta kromatin yoğunlaşması ile piknotik nükleus görünür. Apoptoz geçiren hücrenin membranda çıkıntılar (blebs) oluşur. Hücre apoptotik cisimlere ayrılrsa da organeller fonksiyonel halde kalırlar. İnflamasyon gözlenmez.

Memeli hücrelerinde temel apoptoz yolları; ölüm reseptörleri yolu yani hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanan ölüm aktivatörleri tarafından tetiklenen apoptoz veya mitokondri yolu hücre içinde oluşturulan sinyaller ile tetiklenen apoptoz olarak ikiye ayrılır. **Ölüm reseptörleri yolu** sırası ile şu basamakları içerir. Fas ligan-

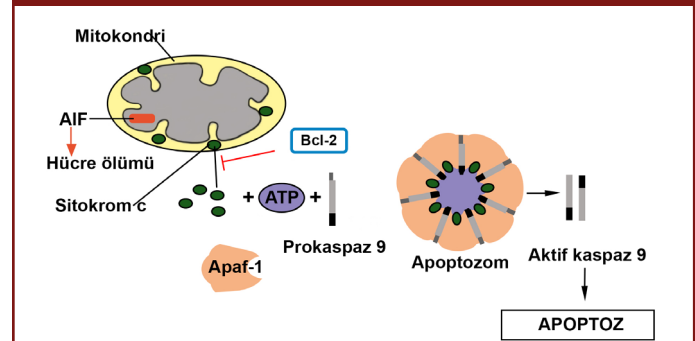
dının reseptörüne bağlanması ile oluşan yapı Fas ile ilişkili ölüm domaini (FADD) yardımıyla prokaspaz 8'e bağlanır. Fas reseptörü FADD ve prokaspaz 8'den oluşan *ölümü indükleyen sinyal kompleksi (DISC)* içinde prokaspaz 8 aktif kaspaz 8'e dönüşür. Aktif kaspaz 3, kaspazla aktifleşen DNaz (CAD) oluşturmak için inhibitör CAD'ı etkisiz hale getirir ve CAD, nükleusda DNA kırıklarına neden olur. Ayrıca aktif kaspaz 8, Bcl-2 ailesinden proapoptotik Bid'i parçalar. Parçalanmış Bid mitokondriden sitokrom c'nin sitoplazmaya salınımını sağlar. Aktif kaspazlar ile hücre apoptoza gider (Şekil 1).

**Şekil 1.** Ölüm reseptörleri yolu (hücre dışı uyarı) ile apoptoz. Fas ile ilişkili ölüm domaini (FADD), kaspazla aktifleşen DNaz (CAD)



**Mitokondri yolu** sırası ile şu basamakları içerir. Sitokrom c mitokondri iç ve dış membran arasında bulunur. Antiapoptotik Bcl-2 veya homoloğu Bcl-xL, sitokrom c'nin sitozole salınımını kolaylaştıran Bax veya Bak'ın oligomerizasyonunu engeller. BH3 içeren proapoptotik proteinler örneğin; PUMA ve Bim, Bak veya Bax'ın oligomerik kanallar oluşturmasına neden olur. Mitokondriden sitokrom c sitozole salındığında Apaf-1, ATP, prokaspaz 9 ile birlikte *apoptozom*'u oluşturur ve bu yapı prokaspaz 9'u aktifleştirir ve apoptotik kaskadın başlamasına neden olur. Aktif kaspaz 9 kaspaz 3, 6 ve 7'yi aktifleştirerek hücrenin proteolitik parçalanmasına neden olur. Ayrıca mitokondriye ait bir protein olan apoptoz uyarıcı faktör (AIF) sitoplazmaya salınır ve hücre nükleusunda kaspazlar olmadan DNA kırıklarına neden olur (Şekil 2).

**Şekil 2.** Mitokondri yolu (hücre içi uyarı) ile apoptoz. Apoptoz uyarıcı faktör (AIF), Apoptotik proteaz aktifleştirme faktörü-1 (Apaf-1)



Hücrenin ekstraselüler matrikse veya diğer hücrelere tutunması kaybolduğunda, ekstraselüler matriksden gelen yaşam sinyalle-

rinin kesilmesi sonucu hücre ölüm yolu **anoikis'i** seçer. Tümör anjiyogenezi ve metastazında apoptoz hücre ölüm yollarından biri anoikisdir. Bazı kanser hücreleri ise anoikise direnç kazanım mekanizmaları nedeni ile metastaz yapabilirler. Yerinden ayrılan hücrenin anoikis sinyalleri üç yolla aktifleşebilir: 1) Ölüm reseptörleri yolu: FAS/FADD ölüm reseptörünün aktivasyonu kaspaz 8'in aktifleşmesi ve sonuçta kaspaz 3 ile apoptoza neden olur. 2) Ekstraselüler matriks-integrin hücre yaşam yolu: İntegrine bağlı moleküllerin aktivasyonu ile PI3K/AKT hücre yaşam sinyallerinin kesilmesi hücreyi apoptoza yönlendirir. 3) Hücre ayrışmasında mitokondri yolu. Salınan sitokrom c kaspaz 9 üzerinden hücreyi apoptoza götürür.

Fas reseptör, Fas ligand veya başlatıcı kaspaz 10 genlerindeki mutasyonlar **otoimmün lenfoproliferatif sendrom (ALPS)** nedenidir. ALPS sendromunda lenf nodları ve dalakda olgun lenfosit birikimi görülür. **Amyotrofik lateral skleroz (ALS)** hastalığında omurilik ve beyinde motor nöron kaybı görülür. Kaspaz aktivasyonu kronik nörodejeneratif hastalıkların ölümcül ilerlemesi ile ilişkilidir. ALS'li hastaların omurilik örneklerinde aktif kaspaz 1 ve kaspaz 3 bulunmuştur.

**II- Nekroz (hasar yolu ile ölüm)** fiziksel ve/veya kimyasal etkenlerle akut hücre hasarı örneğin; hipotermi, hipoksi, radyasyon, düşük pH, hücre mekanik hasarı veya toksik maddeler sonucu gelişen patolojik süreçtir. Virüsle enfekte hücrelerin öldürülmesi için doğal öldürücü ve sitotoksik T hücreleri perforin salgılayarak enfekte hücre membranında hasar oluşturur. Nekroz hücrenin normal homeostazının bozulmasıdır. Nekroz ile ölüm yolunda hücre membrandan su ve iyon geçişi bozulur ve membranda parçalanma görülür. Endoplazmik retikulumda, Golgi kompleksinde ve mitokondride şişme ve organel membranlarında parçalanma görülür. Nekroz geçiren hücrenin organelleri fonksiyonel değildir. Kromatin yapısı dağınık ve rastgele DNA kırıkları görülür. Şişen ve lizise uğrayan hücre makrofajlar ile fagosite edilir. Nekrozda komşu hücreler etkilenir ve dokuda inflamasyon oluşur.

**III- Nekroptoz (Programlı hücre nekrozu)** tümör nekroz faktör (TNF) gibi inflamasyon sinyalleri kaspazlardan bağımsız hücre ölümü olan nekroptozu indükler. Nekroptozda etkili olan moleküller **reseptörle etkileşen protein kinaz 1 (RIPK1)**, RIPK3 ve karışık soy kinaz bölgesi benzeri (MLKL) proteindir. RIPK1, RIPK3 inflamasyon sinyallerini düzenleyen kinazlardır. Hücre tipi ve içeriğine bağlı olarak RIPK1 eksikliği apoptoza veya nekroptoza neden olabilir. RIPK1-FADD-kaspaz 8-TRADD (TNF reseptör ile ilişkili ölüm domain) kompleksi apoptoza neden olabilir. RIPK3 aktivasyonu MLKL fosforilasyonuna yol açarak nekroptozda rol oynar.

**IV- Otofaji** hücre içi makromoleküllerin ve organellerin bir kesecik içine alınarak lizozomlarda parçalandığı fizyolojik veya patolojik hücre ölüm yoludur. Kısa ömürlü proteinler ubiquitin-proteazom sistem ile parçalanırken, uzun ömürlü proteinler ve hücre içi organeller otofaji ile parçalanır. Açığa çıkan yapı taşları örneğin; aminoasitler hücrede kullanım için yeniden kazanılır. Çeşitli organizmaların gelişimi esnasında ölen hücrelerde otofajik ölüm yolunun arttığı gösterilmiştir. Farklı hücre tipleri için farklı uyarıcılar kullanılarak apoptoz ile ölümün olmadığı durumlarda otofajik veziküller oluşturan, lizozomal faaliyeti artıran, bazı kimyasallar tarafından baskılanabilen ve kaspazlardan bağımsız bir hücre ölümü olan otofajinin doğrudan ya da dolaylı olarak oluş-

tuğu gösterilmiştir. Otofaji açlık, büyüme faktörü eksikliği, hipoksi şartları, patojenler gibi çeşitli sinyaller ile tetiklenebilir. Otofaji ile ilişkili çok sayıda protein parçalanacak yapının tanınmasında ve *otofagozom* oluşumunda iş görür. Otofagozom oluştuktan sonra lizozomlarla birleşerek hücre içerikleri sindirilir. Otofajik hücre ölümü *sitoplazmada* gelişen bir hücre ölümüdür. Otofajik hücre ölümünde kromatin yoğunlaşması apoptotik hücre ölümüne göre daha geç olmaktadır. Ayrıca apoptotik cisim ve merdiven kırıkları gözlenmez. Açlık durumunda Lys-Phe-Glu-Arg-Gln amino asit dizisi içeren katlanmamış proteinler lizozomlara hedeflenir. Memeli hücrelerinde üç ana otofajik yolun makrotofaji (otofaji), mikrotofaji ve şaperon aracılı otofajinin bir arada olduğu gösterilmiştir. Otofajik ölüm yolunda esas olarak sınıf III fosfatidilinositol 3 kinaz (**PI3K**) ve UNC-51-like kinaz 1 (**ULK1**) kompleksleri iş görür. Otofajik kesecik oluşumunda izole membran kaynağı tam olarak bilinmemesine rağmen ya ER veya trans Golgi'den kökenlenir. Otofagozom oluşumunda ER ile bağlantılı olan omegazom fonksiyonu için beclin-1 içeren kompleks gereklidir. Otofaji oluşumunda p150-Vps34-beclin-1 kompleksi yanı sıra otofaji/beclin-1 düzenleyici 1 (Ambra1) ve ultraviyole direnci ile ilişkili gen (UVRAG) gibi çeşitli kompleks proteinler de iş görür.

**V- Piroptoz** çeşitli patojen uyarılara karşı mikrobiyal enfeksiyonların kontrolü için inflamasyon esnasında oluşan bir ölüm yoludur. Piroptozda kromatin yoğunlaşır, hücre şişer ve DNA merdiven kırıkları gözlenmez. Patojenler ile inflamatuvar kaspazlardan **kaspaz 1** ve **11** (insanda 4,5) aktivasyonunun artması sonucu hücreler piroptoz olarak adlandırılan ölüm yolunu seçerler. Kaspazlar ile gasdermin D'nin proteolitik parçalanması membranda por oluşumunda, iyon akışında ve membran yırtılmasında iş görür. Sitoplazmik içeriğin salınımı ile hücre lizisine neden olan piroptoz gerçekleşir.<sup>3-7, 9-17</sup>

### Klinik Önemi

Hutchinson-Gilford progeria sendromunda nuklear lamina içeriğindeki lamin A 50 amino asitlik delesyon ile progerin olarak hücrede birikir.

Kaspaz aktivasyonu kronik nörodejeneratif hastalıkların ölümcül ilerlemesi ile ilişkilidir.

Fas reseptör, Fas ligand veya başlatıcı kaspaz 10 genlerindeki mutasyonlar otoimmün lenfoproliferatif sendrom (ALPS) nedenidir.

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Declaration of Interests:** The author declares that she has no competing interest.

### Kaynaklar

1. Herranz N, Gil J. Mechanisms and Functions of Cellular Senescence. *J Clin Invest*. 2018;2;128(4): 1238-46. [\[Crossref\]](#)

2. da Costa J, Vitorino R, Silva GM, Vogel C, Duarte AC, Rocha-Santos T. A Synopsis on Aging-Theories, Mechanisms and Future Prospects. *Ageing Res Rev.* 2016; 29:90-112. [\[Crossref\]](#)
3. Alberts B, Heald R, Johnson A, et al. *Molecular Biology of the Cell.* 7<sup>th</sup> Ed. New York: W. W. Norton & Company, 2022.
4. Pollard TD, Earnshaw WC, Lippincott-Schwartz J, Johnson GT. *Cell Biology.* 3<sup>rd</sup> Ed. Philadelphia, Elsevier, 2017.
5. Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach.* 8<sup>th</sup> Ed. New York, Sinauer Associates, 2019.
6. Lodish H, Berk A, Kaiser C, et al. *Molecular Cell Biology.* 9<sup>th</sup> Ed. Macmillan Learning, 2021.
7. Rodwell VW, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Weil PA. *Harper's Illustrated Biochemistry.* 31<sup>st</sup> Ed. USA, McGraw-Hill Education, 2018.
8. Childs BG, Baker DJ, Kirkland JL, Campisi J, van Deursen JM. Senescence and Apoptosis: Dueling or Complementary Cell Fates? *EMBO Rep.* 2014;15(11): 1139-53. [\[Crossref\]](#)
9. Sender R, Fuchs S, Milo R. Are We Really Vastly Outnumbered? Revisiting the Ratio of Bacterial to Host Cells in Humans. *Cell.* 2016;164(3): 337-40. [\[Crossref\]](#)
10. Yang Y, Jiang G, Zhang P, Fan J. Programmed Cell Death and Its Role in Inflammation. *Mil Med Res.* 2015;2: 12. [\[Crossref\]](#)
11. Tang D, Kang R, Berghe TV, Vandenabeele P, Kroemer G. The Molecular Machinery of Regulated Cell Death. *Cell Res.* 2019;29(5): 347-64. [\[Crossref\]](#)
12. Yu L, Chen Y, Tooze SA. Autophagy Pathway: Cellular and Molecular Mechanisms. *Autophagy.* 2018;14(2): 207-15. [\[Crossref\]](#)
13. Subramanian S, Geng H, Tan XD. Cell Death of Intestinal Epithelial Cells in Intestinal Diseases. *Sheng Li Xue Bao.* 2020;72(3): 308-24
14. Marchi S, Patergnani S, Missiroli S, et al. Mitochondrial and Endoplasmic Reticulum Calcium Homeostasis and Cell Death. *Cell Calcium.* 2018;69: 62-72. [\[Crossref\]](#)
15. Fricker M, Tolkovsky AM, Borutaite V, Coleman M, Brown GC. Neuronal Cell Death. *Physiol Rev.* 2018;98(2): 813-80. [\[Crossref\]](#)
16. Hardin J, Bertoni G. *Becker's World of the Cell.* 9<sup>th</sup> Ed. England, Pearson Education Limited, 2018.
17. Yu P, Zhang X, Liu N. et al. Pyroptosis: Mechanisms and Diseases. *Sig Transduct Target Ther.* 2021; 6:128. [\[Crossref\]](#)

# **BÖLÜM 14**

## **KÖK HÜCRE BİYOLOJİSİ**



# Kök Hücre Biyolojisi

## Stem Cell Biology

### BÖLÜM HAKKINDA

Kök hücrelerin üç ana özelliği kendini yenileme, çoğalma ve farklılaşmadır. Kök hücreler asimmetrik hücre bölünmesi ile kendi yedeğini oluşturur. Kök hücreler simetrik ve asimmetrik bölünme arasındaki denge ile sayılarını korurlar ve kendilerini yenilerler. Farklılaşma kümesi (CD) olarak adlandırılan hücre yüzey antijenleri ile kök hücre tipleri belirlenir. Embriyo veya yetişkindeki kısıtlı sayıda kök hücre yerine, yetişkin somatik hücrelerin çeşitli transkripsiyon faktörleri varlığında yeniden programlanması ile elde edilen uyarılmış pluripotent kök hücreler rejeneratif tıp ve hastalık modelleme çalışmalarında kullanılmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Embriyonik kök hücre, yetişkin kök hücre, kanser kök hücresi

### ABOUT the CHAPTER

The three main features of stem cells are self-renewal, proliferation and differentiation. Stem cells create their own backup by asymmetric cell division. Stem cells maintain their numbers and renew themselves with the balance between symmetrical and asymmetric divisions. Stem cell types are identified by cell surface antigens called clusters of differentiation (CD). Induced pluripotent stem cells obtained by reprogramming adult somatic cells using various transcription factors, instead of a limited number of stem cells in embryos or adults, are used in regenerative medicine and disease modeling studies.

**Keywords:** Embryonic stem cell, adult stem cell, cancer stem cell

Her hücre bir hücreden meydana gelir (*Omnis cellula e cellula*) R. Virchow'a ait bu sözden kök hücre yaşamın kaynağıdır bilgisine geçebiliriz. Kök hücre hem çoğalarak hem de farklılaşarak yeni hücrelere dönüşür. Kök hücreler kendilerini yenileme kapasiteleri ile embriyonik gelişim sonrası organizmanın yenilenmesi ve tamirinde iş görürler. Kök hücrelerin üç ana özelliği kendini yenileme, çoğalma ve farklılaşmadır. Üç tipik kemik iliği, ince bağırsak ve testis kök hücreleri transplantasyon sonrası yetişkin organizmada çoğalmaya devam ederler. Kök hücreleri öncü (progenitor) hücrelerden ayıran en önemli özelliği bölünme esnasında öncü hücreyi üretirken aynı zamanda kendi yedeğini de oluşturmasıdır. *Kendini yenileme kabiliyeti*, kök hücre mikro çevresi yani **niş** içindeki birtakım medyatörlerin uyarısı ile hücre içinde oluşan gen ekspresyonları tarafından yönetilir. Nişi oluşturan ekstraselüler matriks, komşu hücreler ve salgı proteinleridir. Kök hücre *nişi* ile **asimetrik hücre bölünmesi** kök hücre sayısının yaşam boyu sabit kalmasını sağlar. Ayrıca hücre polaritesi ve PAR kompleks proteinleri kök hücre ve farklılaşmış hücre ayrımında önemli etkenlerdir.

Kök hücreler simetrik (kök hücre özelliğini taşıyan iki hücre) ve asimmetrik bölünme (bir kök hücre ve bir farklılaşmış hücre) arasındaki denge ile sayılarını korurlar ve kendilerini yenilerler. Asimetrik hücre bölünmesinde hücre içi ve hücre dışı etkenler birlikte rol oynar. Son çalışmalar sinyal molekülleri, metabolik yollar ve polarize organel dağılımları gibi kader belirleyicilerinin kök hücre asimmetrik bölünmesinin düzenleyicileri olduğunu göstermektedir. Asimetrik hücre bölünmesinde orijinal DNA'nın yavru hücrelerden birisine gittiği düşünülmektedir. Bu asimmetrik mekanizma sayesinde kök hücreler, mutasyonlardan korunmakta ve her zaman aynı genoma sahip hücreler olarak bozulmadan kalabilmektedirler. Kök hücrelerin çoğalma ve farklılaşmasını kontrol eden mekanizmaların aydınlatılması kanser, metabolik ve immünolojik hastalıkların tedavisi için umut ışığı olacaktır.

Hüresel tedavide işlenmiş veya işlenmemiş kök hücreler hastaya verilir. Tedavide kök



hücre kaynağı kemik iliği, periferik kan, kordon kanı, fetal karaciğer olabilir. Kök hücre tipleri ise hematopoetik kök hücre, mezenkimal kök hücre ve donörden alınan lenfositler olabilir. Kök hücreleri morfolojik olarak tanımak mümkün olmadığından hücre yüzey antijenleri ile kök hücre tipi belirlenir. Hücrelerin yüzeyinde yer alan bu antijenler, *farklılaşma kümesi (CD)* olarak hücre türüne özgün veya yaygın olarak bulunurlar. Örneğin; hematopoetik kök hücreler için CD33 ve CD45 kullanılırken mezenkimal kök hücreleri ayırt etmek için CD29, CD79 kullanılır. Çeşitli kanser türleri ile kök hücre yüzey antijenlerinin ilişkisi bildirilmiştir. Örneğin; pankreas kanseri için CD44<sup>+</sup>, CD24<sup>+</sup>, ESA<sup>+</sup>, meme kanserinde CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>, akciğer kanserinde ise Scal<sup>+</sup>, CD45<sup>-</sup>, CD31<sup>-</sup>, CD34<sup>+</sup> olarak bilinmektedir. Ayrıca kök hücreler yavaş bölünme özelliğine sahip olduklarından timidin analogu olan BrdU ile işaretlendiklerinde diğer hücrelere göre daha uzun süre işaretli kalacaklarından ayırt edilebilirler. Epitel kök hücre moleküler belirteci olarak Lrig1 (Lösinden zengin tekrarlar ve immünooglobuline benzer domainler 1) proteini kullanılmaktadır. Hematopoetik kök hücrelere etki eden sinyal yolları veya transkripsiyon faktörleri gibi moleküler işlemler örneğin, hematopoetik kök hücrelerinin miyeloid kök hücre serisine karar vererek farklılaşmaya başlamasının moleküler biyolojisi henüz tam olarak açıklanamamıştır.

**Embriyonik kök hücre (EKH)**'ler, memeli embriyolarında erken morula aşamasına kadar olan dönemde totipotent yani tüm embriyo ve embriyo dışı hücrelere farklılaşma yeteneğindedir. Embriyo blastosiste dönüştüğünde iç hücre kitlesi epiblast ve hipoblast olarak iki tabakaya ayrılır; epiblast hücreleri pluripotent özellikte olup üç germ yaprağına farklılaşma özelliğindedir ayrıca germ hücrelerinin kaynağıdır. Gastrulasyon döneminde oluşan ektoderm, endoderm ve mezoderm tabakalarından kaynaklanan kök hücreler birden fazla hücre grubuna farklılaşma yeteneğinde olup multipotent özellikte sahiptirler. EKH'ler ilk kez Bongso ve arkadaşları (1994) tarafından insan blastosistlerinden elde edilmiştir. EKH'ler kendini yenileme ve farklılaşabilme özellikleri yanı sıra kültürde yetişkin kök hücre (YKH)'lere göre daha uzun süre özelliklerini kaybetmeden çoğalabilirler. Günümüzde insan embriyolarında çalışmalar in vitro fertilizasyon kliniklerine bağışlanan embriyolarla yapıldığı gibi FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu) tarafından onaylanan kök hücre soyları ile de çalışılmaktadır.

**Primordiyal germ hücreleri**, dişide oogonyumlar ve erkekte spermatogonyumlardır. İnsan gelişiminin ikinci haftasının başında epiblast tabakasından köken alırlar. Dördüncü haftada ilk defa vitellus kesesi duvarında gözlenirler.

**Fetal kök hücreler**, amniyon sıvısındaki kök hücreler, plasenta kaynaklı kök hücreler ve göbek kordonu stroması kaynaklı kök hücreler bu gruptandır.

**Yetişkin kök hücreleri (YKH)** çeşitli dokularda veya organlarda gerektiğinde çoğalabilen ve farklılaşabilen hücrelerdir. Örneğin, olgun kan hücreleri kemik iliğinde yer alan hematopoietik kök hücrelerden köken alır. YKH üç grupta incelenebilir. 1-Multipotent özgün doku hücreleri örneğin; hematopoetik kök hücreler olarak kemik iliği, periferik kan ve kordon kanı. 2-Mezenkimal kök hücreler veya unipotent özellikte bir dokuda bulunan hücrelere örnek, kas dokusundaki uydu hücreler. 3-Organlardaki kök hücreler örneğin; bağırsak veya nöral kök hücreleri.

**Mezenkimal kök hücreler (MKH)** doku veya organ yenilenmesi-

ne katkıda bulunurlar. MKH CD105<sup>+</sup>, CD73<sup>+</sup>, CD90<sup>+</sup> gibi hücre yüzey belirteçleri içeren ve *in vitro* şartlarda kemik, kırık ve yağ hücrelerine farklılaşabilen hücrelerdir. MKH immün düzenleyici özelliğe sahiptirler. Mezenkimal kök hücrelerin dentritik hücreler, doğal öldürücü hücreler ve nötrofiller üzerinde etkili oldukları gösterilmiştir. Hematopoezi destekleyerek kemik iliği/kök hücre greft reddini önlerler. İmmün baskılayıcı özellikleri nedeniyle **greft versus host** hastalığının tedavisinde kullanılırlar. Otoimmün hastalık tedavisi gibi birçok hastalıkta uygulama potansiyeline sahiptirler. Mezenkimal kök hücrelerin nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde nörotrofik faktör gibi büyüme faktörlerinin üretimi ile nöron hasarlarının onarılmasında rolü olduğu gösterilmiştir. Birden çok hücre tipine dönüşebilen multipotent mezenkimal kök hücreler biyoseramik veya kompozit iskeleler üzerinde çoğaltılarak çene kemiğine uygulanmıştır. Ayrıca **osteogenesis imperfecta** hastalarında ultraporöz beta-trikalsiyum fosfat iskeleleri kullanılmıştır. Kemik tümör dokularında kazınan tümör dokusu üzerinde mezenkimal kök hücreler çoğaltılarak biyoseramik iskelelerle yer değiştirmesi sağlanır. FDA tarafından onaylanmış yapısal uygulamalar deri ve kırıkta dır.

İlk kez 2006 yılında araştırmacılar embriyo veya yetişkindeki kısıtlı sayıdaki kök hücre yerine yetişkinde bulunan epitel veya fibroblast gibi somatik hücrelerin çeşitli transkripsiyon faktörleri (oct4, sox2 ve klf4 veya nanog) programlanması ile **uyarılmış pluripotent kök hücrelerin** kullanımına yoğunlaşmışlardır. EKH'de olduğu gibi uyarılmış pluripotent kök hücrelerinde de tümör oluşma riski vardır. Fakat kişiye özgü pluripotent özellikte hücreler sayesinde doku reddi olmadan hücre tedavileri gerçekleştirilebilir.

**Kanser kök hücreleri (KKH)** tümör hücrelerinin %1'inden daha azını kapsarlar. Bu hücrelerin kendi kendini yenileyebilme, tümör içinde birçok farklı hücre tipine farklılaşabilme, invazyon ve anjiogenez uyarma yetenekleri vardır. Tümörün başlangıcında KKH ya farklılaşmış hücreler ya da yetişkin dokuda bulunan kök hücrelerden köken alırlar. Normal kök hücrelerin çoğalma ve farklılaşma ile ilişkili sinyal yollarındaki bozukluklar sonucu kanser kök hücrelerine dönüştüğü düşünülmektedir. KKH sadece tümörün başlamasına değil nüklere de neden olur. KKH belirli CD sayıları ile flow sitometri yöntemi ile ayırt edilse de normal kök hücreler ile aynı belirteçlere sahip olabilir. Ayrıca tümör mikro çevresindeki faktörlerin kanser kök hücrelerinin oluşumunda rol oynadığı düşünülmektedir. Tedavi edici ajanların kanser kök hücrelerine yönelik olması önemlidir. Örneğin, akut miyeloid lösemi hastalarından izole edilen kök hücreler normal hematopoietik kök hücrelerinden farklılıklar gösterir.

Kanser hastalarına yüksek doz kemoterapi uygulandığında toksik etki ile oluşan hematopoietik sistemdeki hasarlar hematopoietik kök hücre nakli ile giderilir. Ototolog nakillerde kök hücre çoğunlukla periferik kandan elde edilen hematopoetik kök hücrelerdir. Kanda 1/100.000, kemik iliğinde 1/10.000 hücre kök hücredir. Hastalara büyüme faktörü çoğunlukla granülosit-koloni uyarıcı faktör (G-CSF) verildikten sonra kanında artmaya başlayan hematopoetik kök hücreler istenilen seviyeye ulaştığında hücre ayırma cihazları ile toplanır. Allojenik nakillerde periferik kan veya kemik iliği hematopoetik kök hücreleri toplanır toplanmaz içeriği hesaplanarak kök hücre nakli ünitesine transfer edilir ve hastaya kan ürünü verilir.

Bazı tip tümörler kendi kök hücrelerine sahip olduklarından bu

hücreler yeni bir tümörü başlatabilirler. İnsan lösemi tümöründe kök hücreler milyonda bir oranında bulunduğundan lösemi hücrelerinin büyük bir çoğunluğu yeni bir tümör üretme yeteneğinde değildirler. Kalıcı tedavinin sağlanmasında tümör kök hücrelerinin ölmesi ya da sınırlı mitoz geçirmesi sağlanmalıdır. Oysa kanser tedavilerinde hızla bölünen hücreleri önlemek amacıyla uygulanan kemoterapi veya radyasyon kök hücrelerini daha dirençli kılar.

Kordon kanından elde edilen kök hücreler ile kas, kemik, mesane gibi doku ve organ parçaları üretilebilir. Anne karnındaki bebeğe kök hücre tedavisi uygulanırsa bebek dünyaya gelmeden çeşitli kalıtsal hastalıklar tedavi edilebilir. Günümüzde kök hücrelerin en başarılı ve yaygın kullanım alanları kemik iliği nakli uygulanan çeşitli lösemiler, anemi türleri, lenfomalar, şiddetli kombin immün yetmezlik ve otoimmün bozukluklar sayılabilir.<sup>1-12</sup>

#### Klinik Önemi

Yüksek doz kemoterapi uygulanan kanser hastalarına hematopoietik kök hücre nakli uygulanabilir.

Mezenkimal kök hücreler biyoseramik veya kompozit iskeleler üzerinde çoğaltılarak çene kemiğine uygulanmaktadır.

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Declaration of Interests:** The author declares that she has no competing interest.

#### Kaynaklar

1. Ito K, Ito K. Metabolism and the Control of Cell Fate Decisions and Stem Cell Renewal. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2016;6(32): 399-409. [\[Crossref\]](#)
2. Yadlapalli S, Yamashita YM. DNA Asymmetry in Stem Cells - Immortal or Mortal? *J Cell Sci.* 2013;126(18): 4069-76. [\[Crossref\]](#)
3. Fuchs E, Blau HM. Tissue Stem *Cells: Architects of Their Niches. Cell Stem Cell.* 2020; 27(4): 532-56. [\[Crossref\]](#)
4. Alberts B, Heald R, Johnson A, et al. *Molecular Biology of the Cell.* 7<sup>th</sup> Ed. New York: W. W. Norton & Company, 2022.
5. Lodish H, Berk A, Kaiser C, et al. *Molecular Cell Biology.* 9<sup>th</sup> Ed. Macmillan Learning, 2021.
6. Pollard TD, Earnshaw WC, Lippincott-Schwartz J, Johnson GT. *Cell Biology.* 3<sup>rd</sup> Ed. Philadelphia, Elsevier, 2017.
7. Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach.* 8<sup>th</sup> Ed. New York, Sinauer Associates, 2019.
8. Hardin J, Bertoni G. *Becker's World of the Cell.* 9<sup>th</sup> Ed. England, Pearson Education Limited, 2018.
9. Alberts B, Hopkin K, Johnson A, et al. *Essential Cell Biology.* 5<sup>th</sup> Ed. New York, W.W. Norton & Company, Inc., 2019.
10. Kierszenbaum AL, Tres LL. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology.* 5<sup>th</sup> Ed. USA, Elsevier, 2020.
11. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. *The Developing Human. Clinically Oriented Embryology.* 10<sup>th</sup> Ed. Elsevier, 2016.
12. Hoang DM, Pham PT, Bach TQ, et al. Stem Cell-Based Therapy for Human Diseases. *Signal Transduct Target Ther.* 2022; 6:7(1):272. [\[Crossref\]](#)

# **BÖLÜM 15**

## **İMMÜNOBİYOLOJİ**

# İmmünobiyoloji

## Immunobiology

### BÖLÜM HAKKINDA

İmmün savunma mekanizmaları ya doğuştan veya kazanılmış bağışıklık olarak karşılıklı etkileşerek iş görürler. Esas lenfoid organlar immün sistem hücrelerinin üretildiği kemik iliği ve timüsdür. İkincil lenfoid organlar ise immün cevabın gerçekleştiği lenf düğümü, dalak ve lenfoid dokulardır. Lenfoid kök hücreler B ve T lenfositleri, myeloid kök hücreler ise eritrositleri, trombositleri, lökositleri ve makrofajları oluşturur. Hücrel bağışıklıkta T hücreleri, B hücreleri ve antijen sunan hücreler rol oynarlar. B hücreleri virüse karşı antikor salgılamak, sitotoksik T hücreleri virüsle enfekte olmuş hücreleri öldürür. B lenfositleri doğrudan epitoplara tanıyarak antikor salgılar. Oysa T lenfosit reseptörlerinin epitoplara ile birleşip aktif hale gelmesi ancak major doku uygunluk kompleksi molekülleri aracılığı ile olur.

**Anahtar kelimeler:** İmmün sistem hücre ve dokuları, doğal bağışıklık, kazanılmış bağışıklık

### ABOUT the CHAPTER

Immune defense mechanisms as innate or acquired immunity work by interacting with each other. The main lymphoid organs are bone marrow and thymus, where immune system cells are produced. Secondary lymphoid organs are lymph nodes, spleen and lymphoid tissues where immune response constitutes. Lymphoid stem cells form B and T lymphocytes, while myeloid stem cells form erythrocytes, platelets, leukocytes and macrophages. T cells, B cells and antigen-presenting cells play a role in cellular immunity. B cells secrete antibodies against the virus, while cytotoxic T cells kill virus-infected cells. B lymphocytes recognize epitopes directly and secrete antibodies. T lymphocyte receptors, on the other hand, are only activated by binding to epitopes through major tissue compatibility complex molecules.

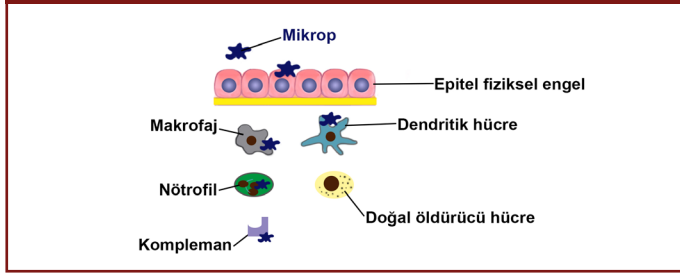
**Keywords:** Cells and tissues of the immune system, innate immunity, acquired immunity

Organizma moleküller, hücreler ve dokulardan oluşan immün sistem ile korunur. Deri gibi mekanik veya lizozim gibi kimyasal immün savunmaları aşan patojenlere karşı **doğal (doğuştan) ve kazanılmış (edinsel) bağışıklık** (immünite) mekanizmaları sırasıyla ve karşılıklı etkileşerek iş görürler. Doğal bağışıklık da enfeksiyonlara karşı ilk engeli epitel hücreleri oluşturur (Şekil 1).

Kazanılmış bağışıklık birkaç gün içinde lenfositler ve onların ürünleri aracılığı ile gerçekleşir. Nötrofil, bazofil, eozinofil, makrofajlar immün sistemin fagositoz yapan hücreleridir. Dolaşımda en bol bulunan ve parçalı loblu nükleusa sahip lökosit çeşidi olan **nötrofil** akut inflamasyon reaksiyonlarında dokuya göç eder. Nötrofiller lizozim, kollajenaz gibi enzimleri içeren spesifik granüllere sahiptirler. **Bazofil** hücreleri normalde dokularda bulunmaz kanda ise lökositlerin %1 kadarını kapsar. Mast hücreleri gibi bazofil de immünoglobülin (Ig)E reseptörlerini eksprese eder ve IgE bağlanması ile uyarılır. **Eozinofil** parazit enfeksiyonlarına karşı gelişen bağışıklık sisteminin bir hücresidir. Tüm eozinofiller IgE reseptörü içerirler. Bakteri ve kompleman sistemine kemotaktik cevap verirler. **Makrofaj** bağ dokuda ve tüm organlarda bulunur örneğin, timüs makrofajları ile patojen mikroorganizmaların fagositozu gerçekleşir. Dolaşımdaki **monosit** hücreleri periferel dokulara göç ederek farklılaşan makrofajları örneğin; akciğerde alveolar makrofajları, karaciğerde Kupffer hücrelerini oluştururlar. İmmün yanıtta katılan **mast** hücreleri antijenlere karşı bölgesel inflamatuvar cevabı örneğin, histamin ile tetikleyen hücrelerdir. Mast hücreleri ve bazofiller tarafından salınan kemotaktik faktörler ile hücreler harekete geçirilerek inflamasyon alanına yönelirler. Mast hücresinden ilk beş dakikada histamin, heparin gibi granül içerikleri 5-30 dakikada lipid medyatörleri örneğin, prostoglandin D<sub>2</sub> ve saatler içinde sitokinlerden TNF (Tümör nekroz faktör)- $\alpha$  ve interlökin (IL)-4,-5,-6,-13 salınır.

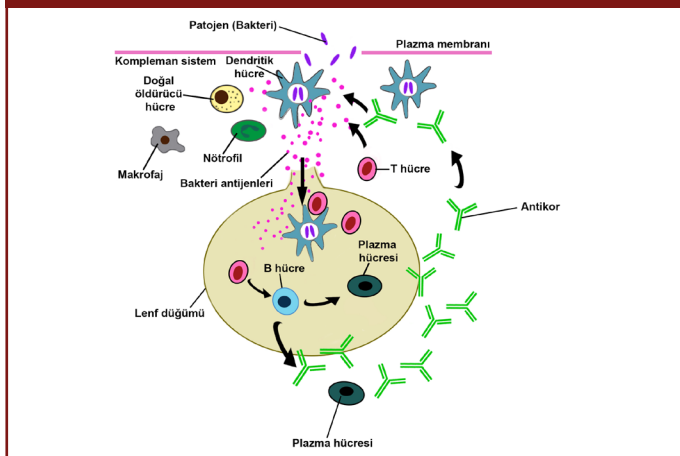


Şekil 1. Doğal bağışıklık



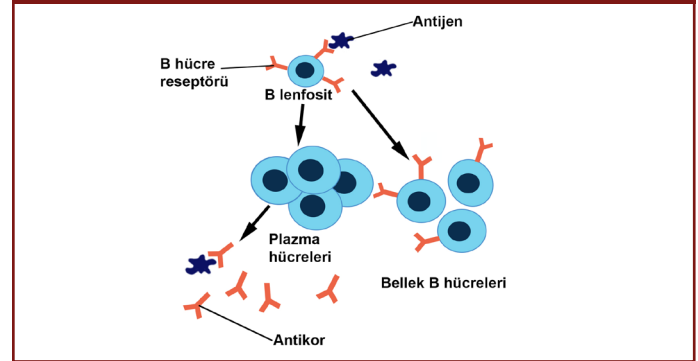
**Doğal bağışıklık** daha önceden patojenle karşılaşmadan doğuştan var olan elemanlar ile dakikalar veya saatler içinde gerçekleşir. Spesifik olmayan hızlı savunmada iş gören bağışıklık sistemidir. Organizma bir patojene maruz kaldığında ilk olarak gelişen doğal bağışıklık mekanizmasında fiziksel engel olan *deri epitel hücreleri*, solunum yolunda *silyalı epitel* ve gastrointestinal kanaldan salınan *mukus* koruyucu rol oynar. Doğal bağışıklık fagositik hücreler olan *nötrofiller*, *makrofajlar* ve *doğal öldürücü hücreler* yanı sıra salgı içerikleri olarak *kompleman sistemi*, *interferon (IFN)* ve *lizozim* ile gerçekleşir. IgG kaplı bir bakteride antikorun Fc bölgesi makrofaj veya nötrofil yüzeyindeki reseptör tarafından tanınarak fagositoz gerçekleşir. **Kompleman sistemi** patojenlerin antikorlarla yok edilmesinde tamamlayıcı rolü olan biyokimyasal işlemleri içeren dolaşımda ve hücre membranında yer alan proteinlerden oluşur. Kompleman sistemi ya antijen antikor bağlanması yani klasik yol ile aktifleşir veya alternatif yol ile mast hücreleri veya doku makrofajlarının mikroorganizmalara atak yapmasına aracılık eden bir seri plazma proteini ile gerçekleşir. Kompleman yollarının etkinleşmesi ile inflamasyonu başlatan peptitler C3a ve C5a'dır. **Doğal öldürücü (NK) hücreler**, virüslara ve diğer hücre içi patojenlere karşı doğal bağışıklıkta önemlidirler. Doğal öldürücü hücreler, bazı tümör hücrelerini öldüren büyük granüllü hücrelerdir. Yüzeyinde C3b komponenti ve IgG'nin Fc bölgesine karşı reseptörler vardır. Doğal öldürücü hücreler enfekte hücreler ile karşılaştıklarında granül içerikleri ile apoptozu uyarırlar veya makrofajlarda üretilen IL-12 doğal öldürücü hücreleri uyardığında salgıladıkları IFN- $\gamma$  ile makrofaj içindeki mikroorganizmaları yok ederler. Doğal bağışıklığın birçok hücreyel reaksiyonuna aracılık eden sitokinler dendritik hücreler, makrofajlar, mast hücreleri gibi hücreler salgılar (Şekil 2).

Şekil 2. Patojene (bakteri) karşı doğal ve kazanılmış immün cevaplar



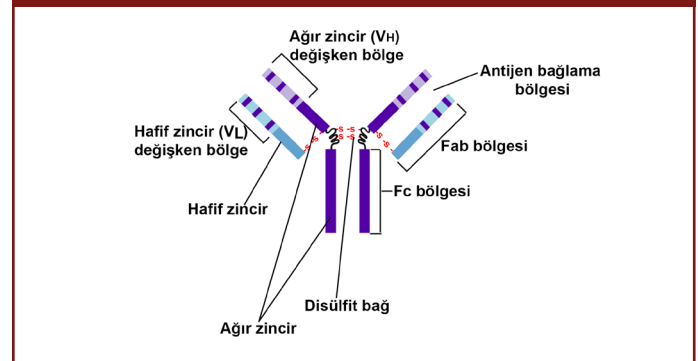
**Kazanılmış bağışıklık** birey enfeksiyöz bir ajan ile karşılaştıktan sonra iki tip cevap oluşturur. **1-Hümorale bağışıklık** hücre dışındaki veya hücre yüzeyine tutunmuş antijenlere karşı üretilen antikorlar ile sağlanır. İlk cevap sürekli antikor üretimi ve bellek hücrelerinin oluşumu ile sağlanır (Şekil 3).

Şekil 3. Hümorale bağışıklık



**İmmünoglobulinler (antikorlar)** antijenle uyarılarak B lenfositlerinin değişimi ile oluşan *plazma hücreleri* tarafından yapılırlar. İnsanda immünoglobulin (Ig) sabit domainlerine göre iki hafif (L) ve iki ağır (H) zincir içerir. İnsanda ağır zincir çeşidine göre beş çeşit immünoglobülin IgG, IgM, IgD, IgA ve IgE bulunur. Örneğin, gastrointestinal kanal ve solunum yolu lümenlerine IgA'nın salgılanması ile mukozal bağışıklık sağlanır. Ig molekülünün Fab bölgesi ile antijen bağlama özgülüğü belirlenirken Fc bölgesi ile hücre yüzeyine bağlanma ve aktif fonksiyonlar gerçekleşir. Antikor molekülünde ağır ve hafif zincirler farklı genler tarafından kodlanır. Gen parçalarının düzenlenmesi değişkendir ve bu nedenle vücudun yapabildiği 100 milyon kadar farklı antikor az sayıda gen ile oluşturulur. İmmün sistemin mükemmel cevabının temeli immünoglobülinin ağır ve hafif zincirlerindeki değişken bölgelerinin çok çeşitli sayıda üretilebilmesidir (Şekil 4).

Şekil 4. İmmünoglobülin G molekülü

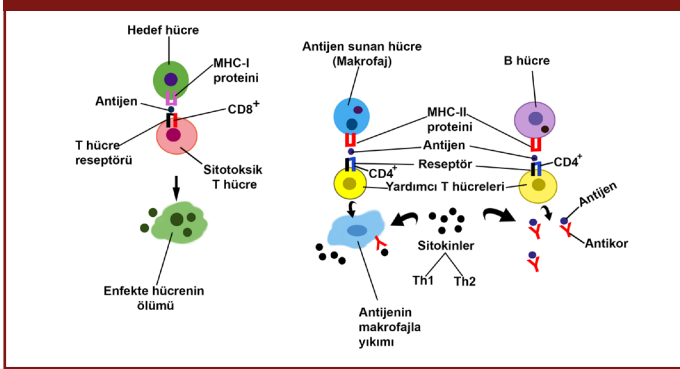


Antikorlar mikroorganizmaların nötralizasyonu, opsonizasyonu, kompleman sisteminin aktivasyonu ile immün cevap oluşmasında rol oynarlar. Fagositoz ile sindirime hazırlık olarak mikropların yüzey proteini opsoninlerin antikorlar ile tanınarak kaplanmasına *opsonizasyon* denir. Polisakkaritten zengin kapsül yapısı bakterileri fagositoz ile sindirimden korur. Ancak antikor aracılı opsonizasyonda antikorların (IgG1 ve IgG3) mikroplara bağlanması fagositoz yapacak hücre üzerindeki Fc reseptörleri tarafından tanınmasına ve mikropların parçalanmasına neden olur.

**2-Hücreyel bağışıklık** patojenin fagositoz yapan hücre tarafından

hücre içine alınmasını gerektirir. Bu hüresel bağışıklıkta **T, B lenfositleri (hücreleri)** ve **antijen sunan hücreler** (dendritik hücreler, B hücreleri ve makrofajlar) rol oynarlar. İki ana tip lenfosit hücresi olarak T lenfositler ve antikor üreten plazma hücrelerine dönüşen B lenfositler vardır. Antijen sunan hücreler *Toll-benzeri reseptörler* aracılığı ile bakteri ve virüsleri tanırlar. B hücreleri virüse karşı antikor salgılayarak, sitotoksik T hücreleri virüsle enfekte olmuş hücreleri öldürür. B hücreleri çok farklı antijenlere karşı antikorlar salgılayarak mikrobun antikorla nötralizasyonunu sağlar. T hücrelerinin bir grubu virüslerle enfekte olmuş hücreleri öldüren **sitotoksik T** lenfositlere farklılaşırken diğeri B hücrelerini veya makrofajları aktiveleştiren **yardımcı T** lenfositlere farklılaşır. Ayrıca **baskılayıcı** ve **gama/delta ( $\gamma/\delta$ ) T** hücreleri vardır. Baskılayıcı T hücreleri örneğin, kendi antijenlerine karşı immün cevabı baskılar (Şekil 5).

Şekil 5. Hüresel bağışıklık. MHC; Major doku uygunluk kompleksi



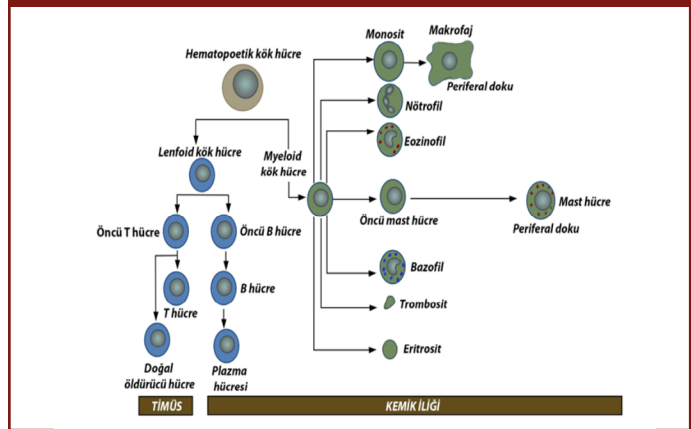
## İmmün-Lenfatik Sistemin Yapısı

Lenfoid organların ana görevi patojen veya antijenlere karşı vücudu korumaktır. Esas lenfoid organlar immün sistem hücrelerinin üretildiği kemik iliği ve timüsdür. İkincil lenfoid organlar ise immün cevabın gerçekleştiği lenf düğümü, dalak ve lenfoid dokulardır. Lenf düğümlerinin korteksinde B lenfositleri, parakorteksinde T lenfositleri ve makrofajlar, medulla bölgesinde ise plazma hücreleri yer alır. İkincil lenfoid organların en büyüğü olan dalak B lenfositleri aracılığı ile antikor oluşumuna katkıda bulunur. Fetal hayatta eritrositlerin, postnatal hayatta granulositlerin yapımında görevlidir. Ayrıca makrofajları aracılığı ile fagositozda rol oynar. Mukoza ile ilişkili lenfoid dokular solunum, sindirim ve ürogenital sistemlerde mukozal alanlara yerleşmiş kapsülsüz lenf nodülleri ya da lenfoid hücre birikimleri olarak izlenir. Gastrointestinal kanalda ince bağırsağın ileum bölümünde Peyer plağı adını alır. Tonsiller ve apendikste mukozal ile ilişkili lenfoid dokuların bulunduğu alanlardır.

İmmün sistem hücreleri kemik iliği hematopoetik kök hücrelerinden oluşur. Hematopoetik kök hücrelerinden iki tip özelleşmiş kök hücresi meydana gelir. **1-Lenfoid kök hücreler**, B ve T lenfositleri oluşturur. **2-Myeloid kök hücreler** ise lökositleri, eritrositleri, trombositleri ve makrofajları oluşturur. B lenfositler kemik iliğinde farklılaşırlar. Kemik iliği dışında aktifleşen B hücreleri plazma hücrelerine farklılaşırlar. Uyarılan B lenfositler birincil hümorale cevabı oluşturmak üzere lenf bezlerinde değişime uğrarlar. Sonuçta uyarılan antijene duyarlı B lenfosit topluluğu (koloni) meydana gelir. Bu hücre kolonisinden plazma hücresi ve bellek B lenfositleri gelişir. **Plazma hücrelerinin** görevi sıvısal yanıtın temel

elemanı olan antikorları oluşturmaktadır. Bir grup B lenfosit oluşumuna neden olan antijen için programlanmış ve bu bilgileri uzun süre saklayabilen **bellek B lenfositleri**ne dönüşürler. Aynı antijenle tekrar karşılaştığında süratle farklılaşır ve çoğalırlar. İnsan dolayısıyla B hücreleri çoğunlukla Ig'nin iki izotipi olan IgM ve IgD az sayıda ise IgA, IgG ve IgE taşırlar. Timüste T lenfositler iki ana tip yardımcı veya sitotoksik T hücrelerine farklılaşırlar (Şekil 6).

Şekil 6. Hematopoetik kök hücre kökenli hücrelerin gelişimi

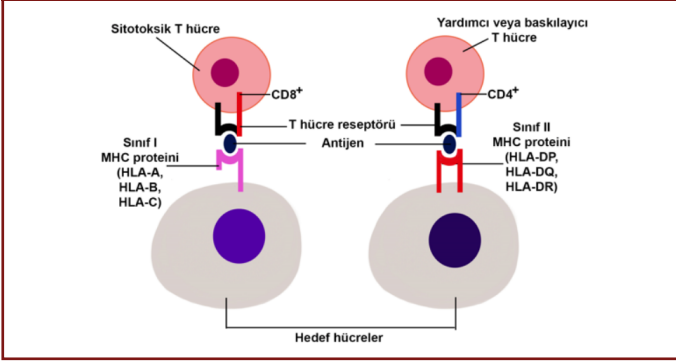


T hücrelerinin öncülleri *timüsta*, B hücreleri (memeli) *fetal karaciğer* ve *yetişkin kemik iliğinde*, doğal öldürücü hücreler *kemik iliğindeki* öncü lenfoid hücreler ve ikincil lenfoid organlarda gelişirler. B ve T hücreleri aktifleşerek kendilerini çoğalttıklarında oluşan yeni tip hücreler **uzun süreli bellek hücreleridir**. Bellek hücreleri yaşam boyunca her spesifik saldıran patojeni hatırlayabilir ve başka bir saldırıda daha güçlü cevap oluştururlar. Gebelik sırasında, IgG'lerin bir kısmı anneden bebeğe plasenta yoluyla geçtiğinden bebekler doğduklarında annelerinin antikorlarının büyük kısmına sahiptirler. Bu *pasif bellek* birkaç gün ile birkaç ay sürer. Uzun süreli aktif bellek, enfeksiyon sonrası B ve T hücrelerinin etkinleştirilmesine gerek duyar. Aktif bağışıklık yapay olarak aşılama ile sağlanabilir. Aşılamanın temel kuralı, patojen ile bağışıklık sistemini uyarmak ve bağışıklığı hastalığa neden olmadan geliştirmektir. Antijenle hiç karşılaşmamış hücrenin bir antijenle aktivasyonundan sonra B ve T hücreleri çoğalır ve farklılaşırlar. Aktif ve bellek hücreler oluşur. Bellek hücreleri ikinci kez aynı antijenle karşılaştığında çok sayıda aktif hücre ve bellek hücresi meydana gelir. Aktif B hücreleri *antikor* salgılayarak. Timüse gelen öncü lenfoid kök hücreler korteksten medullaya geçiş sırasında, olgun T lenfositlere farklılaşırlar. T hücre olgunlaşması esas olarak fetal ve doğumdan kısa bir süre sonra oluşur. Aktif T hücreleri **sitokinler** olarak adlandırılan çeşitli sinyal proteinleri salgılayarak. **Yardımcı T lenfosit 1 (Th1)**; IL-2, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinler oluşturarak **hüresel bağışıklığa** yardımcı olur. **Th2** ise IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10 gibi sitokinler oluşturarak **hümorale yanıtı** yardımcı olur.

Antijenler girdikleri organizma için yabancı olup immün cevap oluşturan moleküllerdir. Antijen molekülü üzerinde antikor veya T hücre reseptörü ile birleşen belirli kimyasal gruplar yani **epitoplular** bulunur. B lenfositleri doğrudan epitoplara tanıyarak antikor salgılayarak. Oysa T lenfosit reseptörlerinin epitoplara ile birleşip aktif hale gelmesi ancak **major doku uygunluk kompleksi (MHC)** molekülleri aracılığı ile olur. Sitotoksik T hücrelerine ait CD8<sup>+</sup> yüzey antijenleri, sınıf I MHC proteinleri ile yardımcı CD4<sup>+</sup> veya baskı-

yıcı T hücreleri ise sınıf II MHC proteinleri ile tanırlar. Gama/delta T hücreleri MHC moleküllerine bağımlı değildirler. İnsanda MHC proteinleri ilk kez lökositlerde görüldüğünden insan lökosit antijen (HLA) olarak adlandırılır. HLA insan 6. kromozomun kısa koluna yerleşmiş kompleks içinde bulunur. HLA gen grubu insanlarda A, B, C ve D gen bölgeleri şeklinde bulunur. *Sınıf I* (HLA-A, HLA-B ve HLA-C) ve *sınıf II* (HLA-DP, HLA-DQ ve HLA-DR) MHC proteinleri içerir (Şekil 7).

**Şekil 7.** Antijenlerin MHC proteinleri aracılığı ile T hücrelerine tanıtılması



Doku transplantasyonunda dokunun reddini önlemek için HLA antijenleri benzerliği önemlidir. **Hemokromatoz** karaciğerde aşırı demir birikimi sonucu görülen otozomal resesif bir bozukluktur ve HLA-A3 aleli ile kuvvetli bir ilişki olduğu bulunmuştur. Hemokromatozlu hastaların %80'in üzerinde HLA-A'ya yakın yerleşen hemokromatoz geninde mutasyon vardır. Hemokromatoz geni demir taşınmasında iş görür. Lenfositler yüzey belirteçleri farklılaşma kümesi (CD) sayılarına göre ayırt edilirler. 300'den fazla CD belirteci bilinmektedir. CD sayıları hücrenin fonksiyonel durumunu gösterir. Örneğin, antijen ile uyarılan hücrelerde CD25 ekspresyonu yapılır. T hücreleri için CD4 veya CD8 ve CD3, B hücreleri için CD19, doğal öldürücü hücreler için CD56, monosit/makrofaj için CD14, dendritik hücre için CD1c biyobelirteçdir. Dendritik hücreler olgunlaşmadan önce fagositiktirler daha sonra T hücrelerine antijeni tanıtır. Patojente ilişkili moleküler yapı (PAMP)'lar kazanılmış immün cevabı en çok dendritik hücreler ile aktive ederler. *Dendritik hücreler* sınıf-II MHC molekülü sentezlerler. CD4<sup>+</sup> T hücrelerine antijen sunarak birincil immün cevabın oluşmasında iş görürler. Lenfoid ve lenfoid olmayan dokuların (kalp, akciğer gibi) hücreler arası alanında yaygın olarak bulunur. *Foliküler dendritik hücreler* ise B hücrelerine antijen sunarlar. Sınıf-II MHC molekülü sentezlemez ve lenf düğümleri, tonsil ve dalakta bulunurlar. IgG antikorunun Fc parçaları için reseptörlere sahiptir.

Çoğu immün bozukluk aşırı immün cevap veya otoimmün saldırı sonucu oluşur. **Astım, ailesel akdeniz ateşi, Crohn hastalığı** (inflamatuvar bağırsak hastalığı) immün sistemin aşırı reaksi-

yonundan kaynaklanır. **Otoimmün poliglandular sendrom**da ise immün sistem kendi hücrelerine saldırır. **Tip I diyabet** otoimmün bir hastalıktır. Pankreasda insülin salgılayan  $\beta$  hücrelerine karşı gelişen immün reaksiyon sonucu insülin eksikliği ortaya çıkar. **Di George sendromu** immün sistem hücre eksikliği ile ortaya çıkar. Otozomal dominant kalıtım söz konusudur. Timüs bezinin gelişimi esnasında T hücre üretimi azalır.<sup>1-11</sup>

#### Klinik Önemi

Astım, ailesel akdeniz ateşi, Crohn hastalığı immün sistemin aşırı reaksiyonundan kaynaklanır.

Di George sendromu immün sistem hücre eksikliği ile ortaya çıkar.

Tip I diyabet otoimmün bir hastalıktır.

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Declaration of Interests:** The author declares that she has no competing interest.

#### Kaynaklar

1. Alberts B, Heald R, Johnson A, et al. *Molecular Biology of the Cell*. 7<sup>th</sup> Ed. New York: W. W. Norton & Company, 2022.
2. Goodman, SR. Ed. *Goodman's Medical Cell Biology*. 4<sup>th</sup> Ed. USA, Elsevier, 2021.
3. Hall CE, Hall ME. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 14<sup>th</sup> Ed. Elsevier, Philadelphia, 2021.
4. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*. 9<sup>th</sup> Ed. Philadelphia, Elsevier, 2018.
5. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System*. 6<sup>th</sup> Ed. Philadelphia, Elsevier, 2020.
6. Zhu L, Han J, Li L, Wang Y, Li Y, Zhang S. Claudin Family Participates in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases and Colitis-Associated Colorectal Cancer. *Front Immunol*. 2019;10: 1441. [Crossref]
7. Wang T, Fu X, Chen Q, et al. Arachidonic Acid Metabolism and Kidney Inflammation. *Int J Mol Sci*. 2019;20(15): 3683. [Crossref]
8. Dhatchinamoorthy K, Colbert JD, Rock KL. Cancer Immune Evasion through Loss of MHC Class I Antigen Presentation. *Front Immunol*. 2021;12: 636568. [Crossref]
9. Kierszenbaum AL, Tres LL. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*. 5<sup>th</sup> Ed. USA, Elsevier, 2020.
10. Ross MH, Pawlina W. *Histology: A Text and Atlas With Correlated Cell and Molecular Biology*. 6<sup>th</sup> Ed. USA, Lippincott Williams & Wilkins, 2011.
11. Punt J, Stranford SA, Jones PP, Owen JA. *Kuby Immunology* 8<sup>th</sup> Ed. New York, USA, w.h. Freeman MacMillan Learning, 2019.



**BÖLÜM 16**  
**HASTALIKLARIN HÜCRESEL**  
**TEMELİ VE KANSER**

# Hastalıkların Hücresel Temeli ve Kanser

## *Cellular Basis of Diseases and Cancer*

### BÖLÜM HAKKINDA

Çeşitli hastalıkların hücresel temelinde hücre membranı, nükleus, sitoplazma, organeller, ekstraselüler proteinler ve bunlarla ilişkili proteinlerin değişimi ve mutasyonu yatar. Bazı genlerdeki mutasyonlar bir hücrenin kontrolsüz şekilde çoğalması ile kansere neden olur. Tümör baskılayıcı genlerin fonksiyon kaybı ile kanserleşme başlar. Genetik değişiklikler proto-onkogenleri onkogenlere dönüştürebilir. Metastatik tümör hücreleri epitel-mezenkimal geçiş ile göç ederler.

**Anahtar kelimeler:** Hastalıkların hücresel temeli, kanser hücresinin temel özellikleri, kanser tedavisi

### ABOUT the CHAPTER

Changes and mutations in the cell membrane, nucleus, cytoplasm, organelles, extracellular proteins and their associated proteins lie on the cellular basis of various diseases. Mutations in some genes cause cancer by the uncontrolled proliferation of a cell. Cancer starts with the loss of function of tumor suppressor genes. Genetic changes can convert proto-oncogenes into oncogenes. Metastatic tumor cells migrate by epithelial-mesenchymal transition.

**Keywords:** Cellular basis of diseases, basic properties of a cancer cell, cancer treatment

İnsan vücudunda ~400 farklı hücre çeşidinin olduğu tahmin edilmektedir. Her birinin işlevsel bozukluğu bir hastalığın gelişmesine yol açabilir. Hastalıkların ortaya çıktıkları hücre tipleriyle ilgili verilerin bağlantı haritaları sistem biyolojisi çalışmalarıyla açıklanmaktadır. Özellikle gen ekspresyon profil teknolojileri ile on binlerce protein-protein bağlantı ilişkilerini moleküler seviyede anlamamız hastalıkların hücresel temelini incelememizde yardımcı olmaktadır.

Hücre fonksiyon bozukluğu ve ölümünün altında yatan nedenlerden biri örneğin; mtDNA hasarları durumunda ATP sentezinin azalması ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretiminin artmasıdır. Hücre hasarı durumunda ATP sentezinin azalması enerji bağımlı fonksiyonların kaybına örneğin, mitokondriden sitokrom c salınımı sonucu apoptoz yoluyla hücre ölümüne neden olur. Hücre membran bütünlüğünün korunması hücre ve organellerde iyonik homeostaz için önemlidir. Membran hasarları sonucu hücre içeriklerinin sindirimi gerçekleşir. Artmış sitozolik kalsiyum hücre içi proteazları aktive ederek hücre iskeletinin bozulmasına neden olur. Ubikitin-proteazom sisteminde sindirilemeyen yüksek oranda oksitlenmiş protein, lipid ve metallerin hücre içi birikimi sonucu oluşan lipofuksinler hücre fonksiyon bozukluklarına yol açar. Lizozom enzimleri ile sindirilmeyen artıklar olan lipofuksin pigment granülleri hücre yaşlanmasına neden olurlar. Tor kinaz protein sentezi ve büyüme gibi hücresel olaylarda önemli bir düzenleyicidir. İnsanda immün baskılayıcı bir ilaç olarak kullanılan rapamisin'in hedefi serin treonin kinaz olan mTor'dur. Bu kinaz mutantların mTor aktivitesi ile kanser arasında güçlü bir ilişki olduğu bilinmektedir.

**Hastalıkların hücresel temelinde** hücre membran, nükleus, sitoplazma, organel proteinleri yanı sıra ekstraselüler proteinlerin de değişimi söz konusudur. Proteomik tabanlı moleküler teşhisler, hastalığın hücresel moleküler mekanizmasının saptanmasında ve tedavisinde önemli rol oynar. Nanobiyoteknolojinin proteomikte uygulanması kişisel tıp uygulamalarında protein biyobelirteçlerin tayinini kolaylaştırmıştır.

Nükleus proteinleri onkogenler örneğin, **kronik myeloid lösemi** t(9:22) 9. kromozomun q34 bandında bulunan ABL geni ile 22. kromozomun 11q bandındaki BCR geninin 22. kro-



mozom üzerinde birleşmesi ile BCR-ABL füzyon geni oluşur. 22. kromozom (Philadelphia) ürünü olan p210 peptidi tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. Tümör baskılayıcı genler örneğin, retinoblastoma proteini ile **retinoblastom**, kromatinle ilişkili proteinler örneğin, metil-CpG bağlayıcı protein 2 (MECP2) gen mutasyonları ile **Rett sendromu** oluşur. RNA'dan translasyonunun düzenlenmesine örnek, frajil X mental retardasyon 1(FMR1) geninin transkripsiyonel susturulması sonucunda FMR protein kaybı **frajil X sendromuna** neden olur. **Meme kanseri** oluşumunda birçok tümör baskılayıcı gen, onkogen ve DNA tamir genleri rol oynar. BRCA1 ve 2 genleri DNA hasar tamirinde farklı iş gören nükleus proteinlerini kodlar. Tümör baskılayıcı BRCA1 ve BRCA2 genlerindeki mutasyonlar meme kanserlerinin %5-10'undan sorumludur. BRCA1 ve BRCA2 genlerinin dizilenmesi sonucu spesifik mutasyonların belirlenmesiyle kanser risk hesaplaması yapan testler mevcuttur.

Sitoplazma protein mutasyonuna örnek, fenilalanin amino asidini tirozine çeviren karaciğer hücrelerinde fenilalanin hidroksilaz enzim eksikliği sonucu **fenilketonüri** hastalığı oluşur. Distrofin kas hücrelerindeki hücre iskelet proteini olup laminini aktine bağlar. Distrofin proteini kas hücre membranlarının iç yüzeyine bağlanarak hücresel bütünlüğü sağladığından yokluğunda hücreler ve kas zayıflar. Distrofin protein eksikliği **Duchenne kas distrofi** hastalığına neden olur.

Organel proteinleri mutasyonuna örnek, **Leber kalıtsal optik nöropatisi (LHON)** mitokondri DNA'sında meydana gelen nokta mutasyonları ile hücrede oksidatif fosforilasyon bozukluğu sonucu optik sinir hasarıyla görme kaybına neden olur. Mitokondri iç membranında yer alan NADH dehidrogenazın alt ünitelerindeki *MTND1*, *MTND4*, *MTND6* gen mutasyonları LHON vakalarının %90-95'inden sorumludur. **Zellweger sendromu**'nun bir tipinde protein alınımında rol oynayan peroksizom membran proteini Pex2'yi kodlayan gende bir mutasyon oluşur. Zellweger sendromu sitozolden peroksizoma alınacak peroksizomal enzimlerin bozukluğu nedeniyle böbrek, karaciğer ve beyin hücrelerinde peroksizomların azalması veya yokluğu ile karakterizedir. **Tay-Sachs hastalığı** lizozomal enzim heksosaminidaz A'nın yokluğu ile beyin ve sinir dokusunda gangliozid birikimi ile ortaya çıkar.

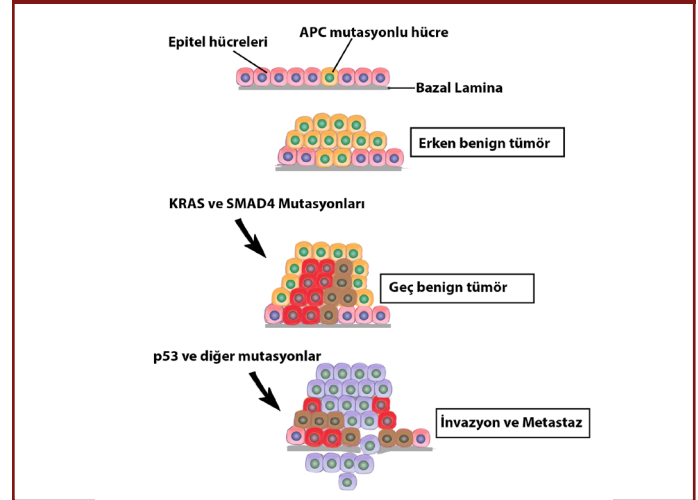
Hücre membran proteinleri örneğin, fibroblast büyüme faktörü reseptör 3 (FGFR3) genindeki yanlış eşleşme mutasyonu ile glisin amino asidinin arginin ile yer değiştirmesi **akondroplazi** nedenidir. Kistik fibrozis transmembran düzenleyici (CFTR) protein mutasyonu klor iyon kanalını bozarak **kistik fibrozis** hastalığına sebep olur.

Ekstraselüler proteinler örneğin, **osteogenesis imperfecta (OI)** hastalığının %90'ı tip I kollajen mutasyonu ile oluşur. Mutasyon tip I kollajen yapılışını etkiliyorsa hafif tip I OI fenotipi görülür. Eğer mutasyon molekülün yapısını değiştiriyorsa yani anormal tip I kollajen molekülleri sonucu tip II, III ve IV OI fenotipi görülür. **Hemofili A** hastalarının ~%40 kadarında intron 22 inversiyonu, ~%40'ında nokta mutasyonu ve ~%10 kadarında delesyon ve insersiyonlar ile kanda faktör VIII eksikliği görülür. Bu eksiklik miktarına göre normalden daha uzun süren pıhtılaşma, eklem içi kanamalar ile hemartroz ve kas içi kanamalarla hematoma gelişmesine neden olur. Hemoglobinin (Hb)  $\beta$  globin zincirinde nokta mutasyonu sonucunda glutamik asit yerine valin gelmesiyle kan hastalığı  **$\beta$ -talasemi** oluşur. Hb S geni homozigot durumda taşıyan hastalar için eritrositlerin şekli nedeniyle dolayı orak hücreli anemi terimi kullanılır.<sup>1-8</sup>

## Kanser

Tümörler, *tek hücreden* köken almış hücreler topluluğudur. Normal doku homeostazi apoptoz ve hücre bölünmesinin dengesi ile sağlanırken, artan hücre bölünmesine karşın apoptoz azalır veya hücre farklılaşma dengesi bozulursa tümör oluşumu gerçekleşir. İnsan kanser sıklığının yıllar içinde yaşla birlikte görülen artışı çeşitli kanserlerin oluşmasında ortalama 1-10 mutasyon gerektiğini göstermektedir. Kanser hücrelerindeki mutasyon hızı normal hücrelerden çok daha yüksektir. Bu nedenle hücrelerde p53 yolağı, DNA tamiri ve kromozomların ayrılmasıyla ilgili gen mutasyonlarının birikimi sonucu *genetik kararsızlık* oluşması kanser gelişimi için önemlidir. Tümör baskılayıcı gen APC (adenomatöz polipozis kolu) Wnt sinyal yolağını engelleyen proteini kodlar. Somatik APC mutasyonları yetişkin kolorektal karsinomların ~ %50'si ile ilişkili bulunmuştur. Tümörler çoğunlukla hücrede tek mutasyon ile başlayıp farklı mutasyonların eklenmesi sonucu gelişir. Örneğin, kolon kanseri gelişiminde APC, KRAS, SMAD4 ve p53 genlerini içeren çoklu mutasyonlar rol oynar. Sürecin erken aşamalarında kolonun iç yüzeyinden çıkıntı yapan polip adı verilen benign (selim) tümörler görülürken, ilerleyen ardışık mutasyonlar ve epigenetik değişiklikler ile malign tümör oluşur (Şekil 1).

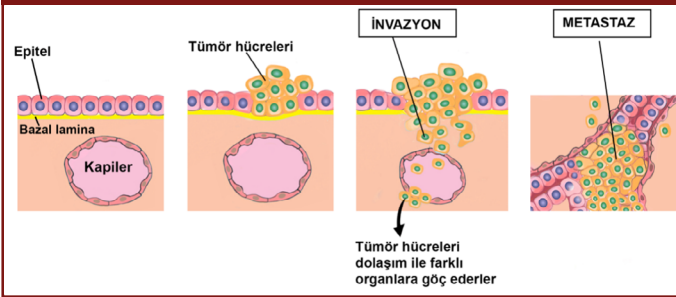
Şekil 1. Kolon kanseri gelişimi



Tümör hücreleri *Warburg etkisi* olarak bilinen çoğalmalarını kontrol eden glukoz metabolizmasında önemli değişiklik gösterirler. Tümör hücreleri artan glukoz alınımı ile oksijen varlığında, oksidatif fosforilasyonun azalışı ve aerobik glikolizin artışı (~4 mol ATP/glukoz) sonucu bol miktarda *laktat* üretirler. Kanser hücreleri, büyüme ve çoğalmaları için büyüme faktörlerinin uyarılarına daha az ihtiyaç duyarlar. Ayrıca bir yüzeye bağlanmadan sıvı veya yarı katı ortamda kolayca çoğalırlar. Kanser hücrelerinde telomerez aktivitesi normal hücrelerin aksine sürekli olduğundan, hücrelerin sınırlı sayıda bölünmeleri yoktur yani ölümsüz özelliktedirler. Çoğu kanser hücrelerinde G<sub>1</sub> evresi ve kısıtlama kontrol noktaları kaybolmuştur. Tümör hücreleri normal hücrelerden sadece görünüşleri ile değil, tüm protein içerikleri bakımından farklılık gösterirler. Örneğin, çoğu beyin kanseri hastalıklarında önemli rol oynayan yeni metabolitler üretilir. Bazı kanser türlerinde artmış/bozulmuş hücre sinyal yolları gösterilmiştir. Örneğin; kolon kanseri, kronik myeloid lösemide *Wnt sinyal yolağı*, pankreas, mide, meme ve prostat kanserlerinde ise sonic *hedghog yolağı* önemlidir.

Mülfaktöriyel bir hastalık olan kanser vücutta istenmeyen yerlerde hızla çoğalan hücre hastalığıdır. Hücre çoğalmasının artması tek başına kanser oluşturmaz. Kanser hücrelerinde genellikle kromozom yapı ve sayısında değişiklikler görülür. Hücresel ve hüneral immün yetmezlikler kanserin gelişmesinde ve ilerlemesinde rol oynar. Epitel hücrelerinin bazal kısmında hücreleri bağ dokudan ayıran bazal lamina bulunur. Tümör özelliği kazanan bir epitel hücrelerinin bazal laminaı geçerek *invazyon* özelliği göstermesi *epitel-mezenkimal geçiş* (EMG) olarak adlandırılır. EMG hücrenin gen ekspresyon ve şeklinin yani fenotipinin mezenkimal hücrelere benzer değişimi ile gerçekleşir. Hücrelerin kontrolsüz ve düzensiz çoğalmasına *yeni büyüme* anlamında *neoplazi* adı verilir. Neoplazi davranışına göre *benign* veya *malign* olarak gelişir. Benign kanser olmayan iyi huylu tümörler genellikle yavaş büyürler, yayılmaları sınırlıdır yani invazif değildir ve uzak dokulara metastaz yapmazlar. Malign veya kötü huylu tümör (*neoplazm*) ise kanser olarak adlandırılır. Anjiogenez olarak adlandırılan yeni kan damar uzantılarının oluşumu ile tümör büyümesi sağlanır. Anjiogenez aktivatörlerinin artışı ve inhibitörlerinin azalışı yeni damar oluşumunu belirler. Tümör hücreleri anjiogenez takiben lenfatik ve kan damar duvarlarını geçerek dolaşıma karışır. Vücudun yeni yerlerinde oluşan tümörler *metastaz* olarak adlandırılır. Tümör mikro çevresi tarafından salgılanan büyüme faktörleri ve diğer faktörler metastazın büyümesini sağlarken metastazı engelleyen örneğin, TGF- $\beta$  salgılayan kanser hücreleri sağlıklı hücrelerin büyümesini engelleyerek hızlı yayılmaya imkân verir (Şekil 2).

Şekil 2. Kanserın invazyon ve metastaz evreleri

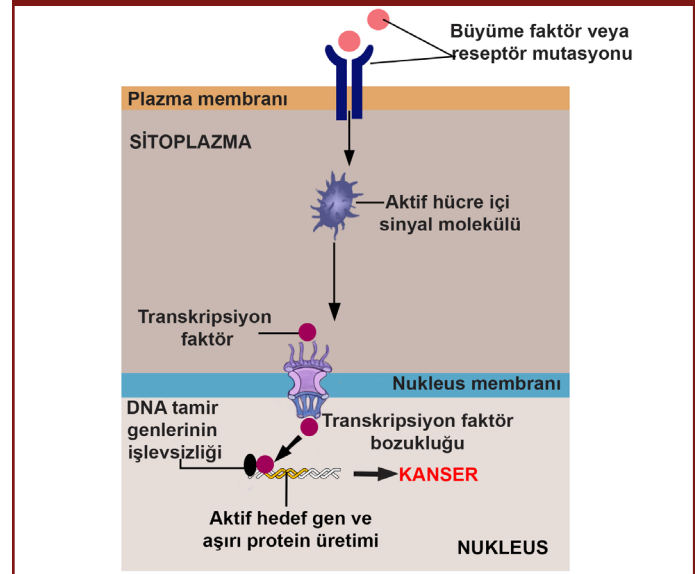


Yüzden fazla kanser çeşidinin adlandırılması ve derecelendirilmesi uygun tedavi seçeneklerini belirlemede önemlidir. Kanserler köken aldığı hücre tipine göre adlandırılır, mikroskopik özelliklerine göre derecelendirilir ve yayılımına göre evrelendirilir. Çeşitli neoplazmalar köken aldıkları hücre tipine göre dört sınıfa ayrılırlar. 1-İnsanlarda en sık gözlenen tümörler çeşitli organların boşluk ve yüzeylerini kaplayan epitel hücrelerinin dönüşümünden kaynaklanan *karsinom*lardır. Karsinomlar ektoderm, endoderm ve mezoderm tabakalarından gelişebilir. En yaygın görülenler akciğer, kolon, meme, prostat, mide, pankreas ve deri karsinomlarıdır. 2-Çok daha az sıklıkta görülen *sarkom*lar, fibroblast ve diğer ilişkili hücreleri içeren mezenkimal dokulardan köken alır. Kemik, kıkırdak ve kas tümörleri bu sınıfa girer. 3-*Nöroektodermal tümörler* olarak nöroblastomlar, glioblastomlar, nörofibrosarkomlar sayılabilir. 4-Hematopoyetik organların ve ilişkili hücrelerin malign dönüşümü lösemilere, miyelomlara ve lenfomalara yol açar. Fakat adlandırmada istisnalar olabilir örneğin, nöral krest'den köken alan melanositler melanom olarak adlandırılır.

Kanser oluşumunda radyasyon, çeşitli kimyasallar, virüs, bakteri,

parazit gibi inflamasyon ajanları ve kalıtım DNA'daki ilk değişikliklere sebep olur. **Proto-onkogenler** olarak adlandırılan normal hücre büyüme ve bölünmesini teşvik eden düzenleyici genler eğer mutasyona uğrarsa aktifleşerek **onkogenlere** dönüşürler. Onkogenler aşırı hücre çoğalmasını uyaran ayrıca apoptozu inhibe ederek sağ kalımı artıran genlerdir. Proto-onkogenlerin onkogenlere dönüşümü şu yollar ile gerçekleşir: 1-Kodlayan dizide delesyon veya nokta mutasyonu olabilir. 2-Düzenleyici gen bölgesindeki değişiklik ile aşırı protein ekspresyonları gerçekleşir. 3-DNA replikasyon hatalarıyla oluşan gen amplifikasyonu ile çok sayıda normal protein yapılı. Örneğin, meme kanserlerinin ~%25'i büyüme faktörü reseptörünü kodlayan ErbB2 (HER2) geninin çok sayıda kopyasını içerir. 4- DNA'daki kırıklar ve birleşmelerle kromozomların yeniden düzenlenmeleri ile aşırı protein üretimi gerçekleşir (Şekil 3). Kromozomal translokasyon ile aktifleşen örneğin, c-myc geni hücre çoğalmasında transkripsiyonu düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Lenfositlerde 8. kromozomun myc içeren parçası ile 14. kromozom arasındaki karşılıklı translokasyon sonucu myc proteininin aşırı üretimi **Burkitt lenfoma**'ya neden olur.

Şekil 3. Proto-onkogenlerin onkogenlere dönüşümü ve kanser



İlk tanımlanan insan onkogeni Ras'dır. Sıçanlarda sarkom oluşturan virüslerin onkogenik proteini olarak tanımlanan Ras (Rat sarcoma), GTPaz süper ailesine ait küçük bir G proteindir. Normal *Ras* genini onkogene dönüştüren mutasyonlar ile sürekli aktif durumdaki Ras proteinlerinin nedeni GTP hidrolizinin azalmasıdır. Böylece kanser hücreleri büyüme faktörü uyarısına ihtiyaç olmadan GTP-bağlı aktif mutant Ras proteinleri ile düzensiz olarak çoğalırlar. **Tümör baskılayıcı** genler tümör oluşumunda büyümeyi baskılayarak hücrelerin kontrolsüz çoğalmasını ya hücre döngüsünü durdurarak ya da hücre farklılaşmasını uyarak veya hücreyi apoptoz yönündendirerek engeller. Tümör baskılayıcı genlerin fonksiyon kaybı ile kanserleşme başlar. İnsanda ilk tanımlanan tümör baskılayıcı gen *retinoblastoma (Rb)* hücre döngüsünü G<sub>1</sub> evresinde durdurur. Daha sonra tanımlanan tümör baskılayıcı gen *p53* bir transkripsiyon faktörü olarak hücre döngüsünü durdurarak apoptoz, farklılaşma ve yaşlanma gibi çeşitli fonksiyonlarda iş görür. p53 proteini hücrenel bir stres saptayıcısıdır. Hücre içi hipoksi, telomer kısalması, DNA kırıkları gibi çeşitli streslere cevap olarak p53 seviyesi yükselir.

Kanserojen virüsler tüm kanserlerin %10-20'sini oluşturur. Bazı virüsler çeşitli kanser oluşumlarına örneğin; insan papilloma virüsü (HPV) serviks kanserine, hepatit B ve C virüsleri ise karaciğer kanserine neden olur. Kanserlerin %70'ini hedefleyen HPV 16 ve 18 alt tipleri için ilk aşı uygulamasına 2006 yılında başlanmıştır. Viral ajanlar ile artan genomik kararsızlık çeşitli kanserlerin gelişiminde en önemli risk faktörlerinden biri olarak kabul edilmektedir.

Kanseler nadir görülenler ve genetik yatkınlığı olanlar şeklinde ayrılabilir. Karsinojenler genellikle somatik hücreleri etkilediğinden kanserler etkilenen kişiyle sınırlıdır. Her hastanın genetik durumunu bilmek en uygun kişisel tedaviyi bulmak açısından önemlidir. Kanser tedavisinde günümüzde kullanılan radyoterapi ve kemoterapiler yan etkilerinden dolayı tam tedavi edici özellik taşımazlar. Ayrıca özel mikro çevrelerinde bulunan kanser kök hücreleri genellikle kemoterapiye direnç gösterdiklerinden dolayı kanserin tekrar oluşumuna neden olurlar. Yüksek etkili kanser tedavilerinde iki seçenek vardır. 1-Malign tümörlerin tedavi başarısını homeostatik faktörler etkiler. Tedavide önemli faktörlerden biri olarak tümör mikro çevresi düşünülmelidir. 2-Solid tümörlerin %30-80'ini oluşturan nekrotik dokular daima canlı kanser hücreleriyle yakın ilişkide olduklarından tedavi durumlarında iş görebilirler. Örneğin, tiroid kanserli hastalarda iyot-131 kullanımı %80'nin üzerinde başarı sağlar.

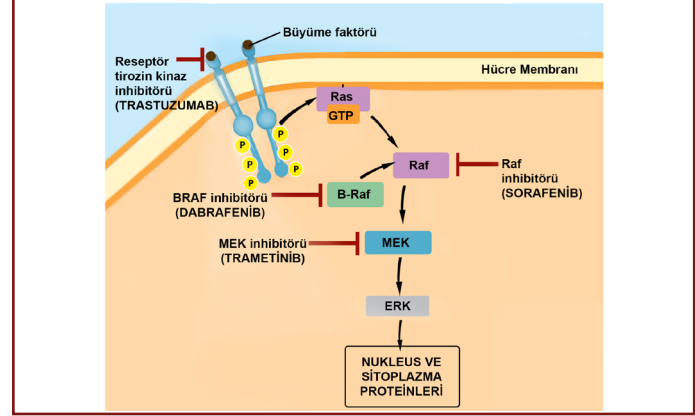
Kanser için standart tedaviler cerrahi, radyasyon ve kemoterapi uygulamalarıdır. Daha agresif akciğer, pankreas, karaciğer kanserleri veya geç evrede saptanan kanserlerde standart kemoterapi yerine *immütedavi* tercih edilir. Hücre yüzey proteinlerini tanıyan farklı tür canlılardan insan için geliştirilmiş (humanized) *monoklonal antikolar* kullanılır. Örneğin, meme kanserinde insan epidermal büyüme faktörü reseptör 2 proteininin (HER2) artmasının, bazı hastalar için zayıf klinik prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Moleküler hedefe yönelik ilk ilaçlardan *trastuzumab* HER2 reseptörüne yüksek özgüllük ile bağlanan rekombinant DNA ile üretilmiş antikordur. Yakın zamanda meme kanserinin ölümcül formu için C-C kemokin tip 5 (CCR5)'e karşı monoklonal antikor olan *lerolimab* etkin tedavi olarak önerilmektedir. Farklı kanserlerin tedavisinde immün cevap inhibitörleri olarak sitotoksik T-lenfosit ile ilişkili protein-4 (CTLA-4) ve programlanmış hücre ölüm proteini-1 (PD-1)'i hedefleyen antikolar kullanılmaktadır. Kanser kemoterapisinde Bim veya MAP kinaz yolağına göre tedavi düzenlenebilir. *Sorafenib*, *trametinib*, *imatinib*, UO126 ile MAP kinaz yolağı, *bortezomib* ile proteazom fonksiyonu, *taksan* ile Bim aracılı apoptoz kontrol edilir (Şekil 4).

Ekstraselüler veziküllerin bir alt tipi olan eksozomlar hücreler arası iletişim sağlayan küresel şekilli, iki lipit tabakalı membran ile çevrili keseciklerdir. Eksozomlar kanser gelişimini, metastaz ve ilaç direncini kontrol etmek için yakın ve uzak çevre kanser hücreleri ile iletişim kurarlar. Eksozom temelli tanı ve tedavi yöntemleri erken kanser teşhisinde ve hedefe yönelik ilaç taşınmasında umut vaat etmektedir (Şekil 5).

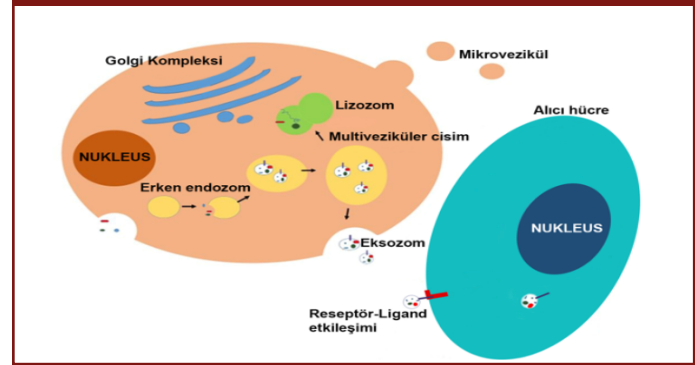
İnsan kanser hücrelerinin telomerleri sağlıklı hücre telomerlerinden daha fazla kısalmaktadır. Tüm kanserlerin %80'ninden fazlasında telomeraz aktivitesi gözlenir. *Telomeraz aktivitesi inhibitörleri* bazı durumlarda malign tümör oluşumunu kontrol edebilir. Kanser oluşumunun erken evrelerinde epigenetik değişikliklerin görülmesi ilaç geliştirilmesini sağlamıştır. FDA hematolojik

kanserlerde dört ilaç kullanımı için onay vermiştir. Örneğin, DNA metilasyon inhibitörü olan 5-aza-2'-deoksitidin myelodisplastik sendrom için kullanılmaktadır.<sup>8-17</sup>

Şekil 4. Ras-ERK (MAP kinaz) sinyal yolunu hedefleyen bazı kanser ilaçları



Şekil 5. Eksozom biyogenez ve salınımı



#### Klinik Önemi

Kromatinle ilişkili proteinler örneğin, metil-CpG bağlayıcı protein 2 (MECP2) mutasyonları Rett sendromuna neden olur.

Lizozomal enzim heksosaminidaz A'nın yokluğu ile beyin ve sinir dokusunda gangliozid birikimi ile Tay-Sachs hastalığı ortaya çıkar.

Hemoglobinin  $\beta$  globin zincirinde nokta mutasyonu sonucunda glutamik asit yerine valin gelmesiyle  $\beta$ -talasemi oluşur.

Moleküler hedefe yönelik ilk ilaçlardan trastuzumab standart kemoterapi ile birlikte meme kanserinde nüks riskini azaltmaktadır.

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Declaration of Interests:** The author declares that she has no competing interest.

## Kaynaklar

1. Subramanian I, Verma S, Kumar S, Jere A, Anamika K. Multi-omics Data Integration, Interpretation, and its Application. *Bioinform Biol Insights*. 2020;14: 1177932219899051. [\[Crossref\]](#)
2. Nissen SK, Laursen AL, Poulsen LH, Mogensen TH. Identification of a Novel Mutation in the Factor VIII Gene Causing Severe Haemophilia A. *BMC Hematol*. 2018; 18:17. [\[Crossref\]](#)
3. Sunamura N, Iwashita S, Enomoto K, Kadoshima T, Isono F. Loss of the Fragile X Mental Retardation Protein Causes Aberrant Differentiation in Human Neural Progenitor Cells. *Sci Rep*. 2018;8(1):11585. [\[Crossref\]](#)
4. Amore G, Romagnoli M, Carbonelli M, Barboni P, Carelli V, Morgia CL. Therapeutic Options in Hereditary Optic Neuropathies. *Drugs*. 2021;81: 57-86. [\[Crossref\]](#)
5. Faundez V, Wynne M, Crocker A, Tarquinio D. Molecular Systems Biology of Neurodevelopmental Disorders, Rett Syndrome as an Archetype. *Front Integr Neurosci*. 2019;13:30. [\[Crossref\]](#)
6. Goodman, SR. Ed. *Goodman's Medical Cell Biology*. 4<sup>th</sup> Ed. USA, Elsevier, 2021.
7. Cornish AJ, Filippis I, David A, Sternberg MJE. Exploring the Cellular Basis of Human Disease through A Large-Scale Mapping of Deleterious Genes to Cell Types. *Genome Med*. 2015;7(1): 95. [\[Crossref\]](#)
8. Alberts B, Heald R, Johnson A, et al. *Molecular Biology of the Cell*. 7<sup>th</sup> Ed. New York: W. W. Norton & Company, 2022.
9. Jiao X, Wang M, Zhang Z, et al. Leronlimab, a Humanized Monoclonal Antibody to CCR5, Blocks Breast Cancer Cellular Metastasis and Enhances Cell Death Induced by DNA Damaging Chemotherapy. *Breast Cancer Res*. 2021;23,11. [\[Crossref\]](#)
10. Chen L, Liu S, Tao Y. Regulating Tumor Suppress or Genes: Post-Translational Modifications. *Signal Transduct Target Ther*. 2020;5(1): 90. [\[Crossref\]](#)
11. Rotte A. Combination of CTLA-4 and PD-1 Blockers for Treatment of Cancer. *J Exp & Clin Cancer Res*. 2019;38(255): 1-12. [\[Crossref\]](#)
12. Saito Y, Desai RR, Muthuswamy SK. Reinterpreting Polarity and Cancer: The Changing Landscape from Tumor Suppression to Tumor Promotion. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2018;1869(2): 103-16. [\[Crossref\]](#)
13. Yang CY, Yang JC, Yang PC. Precision Management of Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Annu Rev Med*. 2020; 71:117-36. [\[Crossref\]](#)
14. Weinberg RA. *The Biology of Cancer*. 2<sup>nd</sup> Ed. Garland Science, Taylor & Francis Group, 2014.
15. Varela-Vázquez A, Guitián-Caamaño A, Carpintero-Fernandez P, et al. Emerging Functions and Clinical Prospects of Connexins and Pan-nexins in Melanoma. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2020;1874(1): 188380. [\[Crossref\]](#)
16. Testa U, Pelosi E, Castelli G. Colorectal Cancer: Genetic Abnormalities, Tumor Progression, Tumor Heterogeneity, Clonal Evolution and Tumor-Initiating Cells. *Med Sci (Basel)*. 2018;6(2): 31. [\[Crossref\]](#)
17. Martinez-Ledesma E, Flores D, Trevino V. Computational Methods for Detecting Cancer Hotspots. *Comput Struct Biotechnol J*. 2020;18: 3567-3576. [\[Crossref\]](#)

**BÖLÜM 17**  
**HÜCREYİ İNCELEME YÖNTEMLERİ**  
**VE KİŞİSEL TIP**

## Hücreyi İnceleme Yöntemleri ve Kişisel Tıp

### *Methods of Cellular Examination and Personalized Medicine*

#### BÖLÜM HAKKINDA

İmmünohistokimya yöntemi hücresel proteinlerin yerleşimlerini ve aktivite gösterdikleri alanları saptamada kullanılır. Mikrodizin yöntemi çeşitli fizyolojik veya patolojik süreçlerde gen ekspresyon değişimlerini izlemek için kullanılmaktadır. Flow sitometri, bir çözeltideki tek hücreleri veya partikülleri analiz eder. İnsanlardaki karmaşık biyolojik mekanizmaları anlamak için çeşitli deneysel modeller kullanılır. Kişisel tıp uygulamaları ile bireyin moleküler profiline göre hedefsel ilacın uygun dozda ve doğru zamanda verilmesi sağlanır.

**Anahtar kelimeler:** İmmünohistokimya, mikrodizin, flow sitometri, model organizmalar, kişisel tıp

#### ABOUT the CHAPTER

Immunohistochemistry method is used to detect the locations of cellular proteins and the regions where they show activity. The microarray method is used to monitor changes in gene expression during various physiological or pathological processes. Flow cytometry analyzes single cells or particles in a solution. Various experimental models are used to understand complex biological mechanisms in humans. With personalized medicine applications, it is ensured that the target drug is given in the appropriate dose and at the right time according to the molecular profile of the individual.

**Keywords:** Immunohistochemistry, microarray, flow cytometry, model organisms, personalized medicine



### Hücreleri Mikroskopik İnceleme Yöntemleri

Hücre ve dokuların uzun süre canlı olarak incelenmesi sınırlı olduğundan çoğunlukla incelenecek doku parçası organizmadan çıkarılarak fiksatif denilen kimyasal maddelerle tespit edilir ve **preparat** olarak hazırlanıp ışık mikroskopunda incelenir. İnsan gözü 100 µm'dan daha dar aralıklı iki noktayı birbirinden ayırt edemediği için incelemelerde mikroskoplar kullanılır. **Işık mikroskopunda büyütme**; oküler X objektif büyütmesine eşittir. Işık mikroskopunun ayırma gücü 0.2 µm iken elektron mikroskop ayırma gücü 0.2 nm'dir. Transmisyon elektron mikroskopunda elektronlar elektromanyetik alanda sapar ve kesitten geçtiğinden görüntü iki boyutlu oysa tarayıcı (scanning) elektron mikroskopunda akım incelenecek parçanın yüzeyine çarptığından yüzeyler üç boyutlu incelenir.

Organizmadan alınan biyolojik materyallerin mikroskop altında incelenebilmesi için uygulanan rutin preparat hazırlama işlemlerine **mikroteknik** denir. Mikroteknik aşamaları: 1- Organizmadan ya *biyopsi* olarak canlı ya da *otopsi* yani cansız halde parça alınır. Işık mikroskop çalışmaları için alınan doku büyüklüğü ~1 cm<sup>3</sup> ve elektron mikroskop için ~1 mm<sup>3</sup> ve mutlaka biyopsi olmalıdır. 2-Fiksasyon işleminin amacı hücreyi otolizden ve bakteri sindiriminden korumak, hücre içeriklerinin kaybını önlemek ve hücre membranını geçirgen hale sokmaktır. Doku fiksasyon işlemiyle canlı haline en yakın şekilde korunur. Fiksasyon işlemi mikrodalga, alev, havada kurutma, dondurma gibi fiziksel veya kimyasal maddeler ile olabilir. Kimyasal fiksasyonda rutin işlemlerde en çok kullanılan Bouin fiksatif içeriğinde pikrik asit + asetik asit + %40 formol bulunur. Mikroskoplarda incelenecek fikse edilmiş örneklerden çok ince kesitlerin alınması gerekir, bu nedenle gömme işlemi uygulanır. 3- *Gömme (inklüzyon)* işlemi için dokular **parafin** veya **selloidin** gibi yarı sert ve kolayca kesilebilen maddelerin içine konur. 4- Mikrotomlar ile 3-5 µm kalınlıkta kesitler alınır. 5- Boyama işleminde kesitlere ya doğal boyalar (hematoksilen, orsein, safran, karmin) veya sentetik asit boyalar (eosin), sentetik bazik boyalar (metilen mavisi),





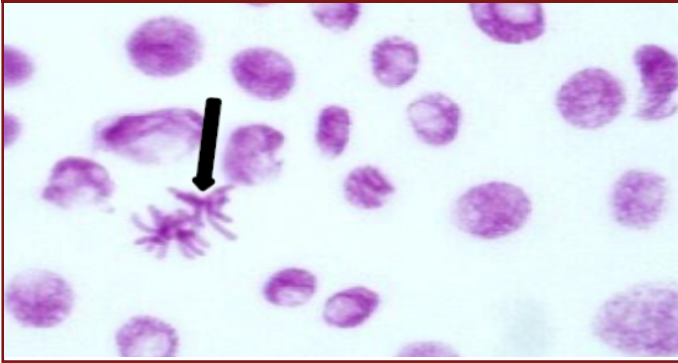
sentetik nötr boyalar (Giemsa) uygulanabilir. 6- Kesitlerin hava ile irtibatının kesilmesi için Kanada balsamı veya sentetik entellan ile kapatılması sonucu onlarca yıl arşivleyip incelenecek preparatlar hazırlanmış olur.

### Özel Tekniklerin Uygulanması

#### 1- Histokimyasal Metotlar

A- Kimyasal metotlar: İnorganik ve organik maddelerin gösterilmesi örneğin, nükleik asitlerden DNA Feulgen reaksiyonu ile gösterilir (Şekil 1). **Feulgen reaksiyonu:** Doku kesiti + Hidroklorik asit → Deoksiriboz moleküllerinde serbest aldehit grupları açığa çıkar → Schiff ayracı (Bazik fuksin ve sodyum metabisüfit) ile DNA içeren kromatin materyali veya kromozomlar ışık mikroskopunda parlak menekşe renkte izlenir. DNA Feulgen (+) reaksiyon olarak izlenirken RNA Feulgen (-) yani boyanmamıştır. B-Fiziksel metotlar: *UV Spektrofotometri yönteminde* her madde özel bir absorpsiyon spektrumunda örneğin; nükleik asitler 260 nm, proteinler ise 280 nm dalga boyunda çözelti içinde emdiği ışık miktarı ile ölçülür.

Şekil 1. Feulgen reaksiyonu ile metafaz kromozomları (ok), X40.



#### 2-İmmünohistokimya (IHK) Metodu

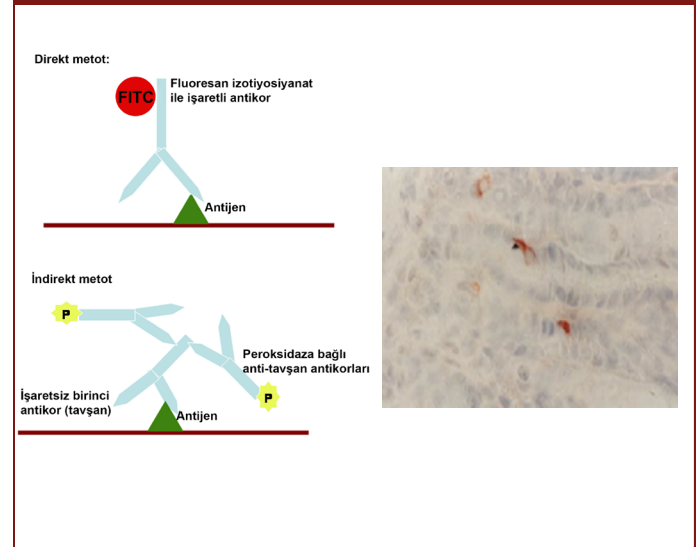
Antijen ve antikor eşleşmesine dayanan bu yöntemde işaretlenmiş antikorlar dokuda spesifik antijenlerine bağlanır. Bu antijen-antikor bağlantı bölgeleri ışık veya elektron mikroskopunda incelenebilir. Antikor işaretlenmesi floresan izotiyosiyanat, rodamin gibi fluorokrom veya peroksidaz gibi enzim veya Fe, Ag, Au gibi metal kullanılarak yapılır. İmmünohistokimya ile antijen yerleşiminin gösterilmesi iki şekilde olur. *Direkt metot* belirli bir antijeni taşıyan doku kesiti işaretli bir antikor ile inkübe edilir, işaretli antikor ile etkileşen antijenin yeri mikroskopda görüntülenir. *Dolaylı (indirekt) metotta* ise işaretli birinci antikorlar normal dokuda bulunan antijenle etkileşime sokulur. Daha sonra bu kesitler işaretli ikinci bir antikor ile inkübe edilir ve antijenin yeri işaretlenmeye uygun bir mikroskopda görüntülenir (Şekil 2)°. İHK yönteminin kullanımı hücresel proteinlerin yerleşimlerini ve aktivite gösterdikleri yerleri saptamada, çeşitli endokrin hastalıkların veya kanser tiplerinin ayırımında ve gelişim biyolojisi çalışmalarında önemlidir.<sup>1-8</sup>

#### 3-İn Situ Hibridizasyon (ISH) Metodu

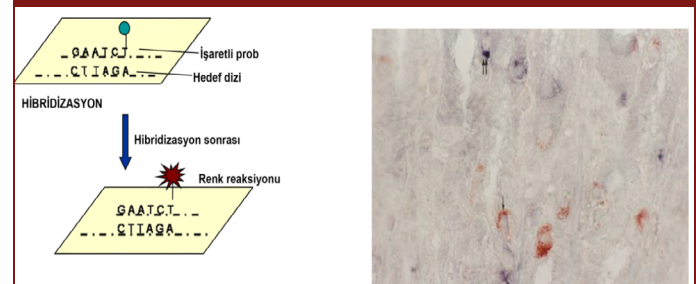
*In situ (yerinde)* hibridizasyon yöntemi kromozomlarda (DNA), kültür hücrelerinde (DNA veya mRNA), doku kesitlerinde özel nükleik asit dizilerinin bulunduğu yerde gösterilme şeklidir. ISH metodu nükleik asitlerin eşleşmesine (DNA-DNA, RNA-RNA veya DNA-RNA) dayanır. Bu yöntemde radyoaktif veya kimyasal

bir madde ile işaretlenmiş belli bir nükleotit dizisinden oluşan tek iplikli DNA veya RNA parçasından oluşan **prob** kullanılır. Bu yöntemin amacı genomdaki yapısal değişiklikleri saptamak veya gen ekspresyonunda RNA transkriptlerinin seviyesini göstermektir. Hasta biyopsi arşiv materyalleri kullanılarak klinik örneklerde ISH uygulanabilir. ISH yöntemi, denatürasyon (mRNA için gerekli değil), hibridizasyon ve işaretli prob olarak üç ana aşama içerir. Radyoaktif bir madde ( $P^{32}$ ,  $S^{35}$ ) ile işaretli prob kullanılan ISH tekniğinde sinyal otoradyografi ile biotin veya digoxigenin ile işaretli prob kullanılırsa sinyal enzim reaksiyonu ile ortaya çıkarılır. ISH metodu immünohistokimya metodu ile ardışık uygulanarak gen ekspresyon seviyelerindeki değişiklikler saptanabilir (Şekil 3)°. Nükleik asitlerin Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) ile gösterilmesi kromozomların yapı ve anomalilerinin saptanmasında ve gen haritalanmasında önemlidir. Floresan ile saptama, çözünürlüğün iyi olması ve aynı anda birden fazla probdan sinyal alınması gibi üstünlükler yanı sıra morfolojik görüntünün zayıflığı ve sinyalin çabuk solması gibi dezavantajlar da içerir. ISH kullanım alanları arasında mRNA lokalizasyon tespiti, çeşitli kanserlerin teşhisinde onkogenlerin tespiti, dokulardaki bakteri ve virüs enfeksiyonlarının tespiti, ko-lokalize hormonların saptanması, prenatal teşhis, kromozomal anomalilerin tespiti, taksonomik çalışmalar ve moleküler evölüsyon çalışmaları sayılabilir.

Şekil 2. İmmünohistokimya ile antijen yerleşiminin direkt ve dolaylı metot ile gösterilmesi. Mide D hücrelerinin içerdiği somatostatini (okbaşı) kırmızı.<sup>9</sup>

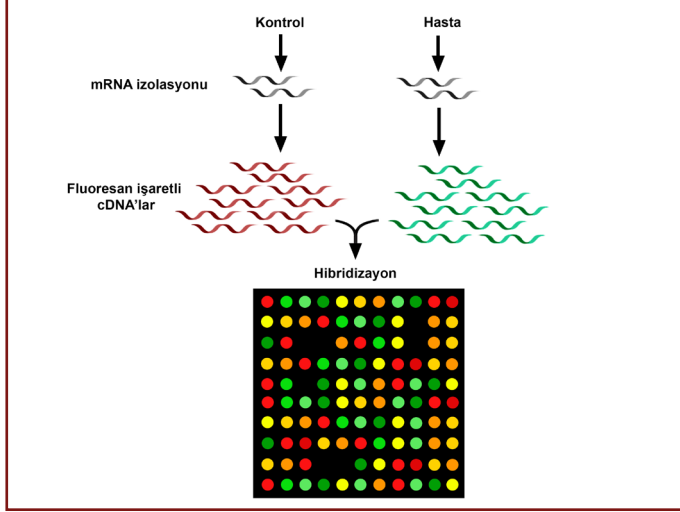


Şekil 3. Şematik ISH metodu. ISH ve İHK ardışık çift boyama ile gastrin mRNA (çift ok) ve gastrin peptidi (ok) görülmekte.<sup>9</sup>



Nükleik asit hibridizasyon temeline dayanan **mikrodizin** (mikroarray) yöntemi ile çip üzerinde yer alan binlerce doku veya hücre örneklerinde aynı anda çok sayıda probun hibridizasyonu ile DNA veya RNA'ların karşılaştırmalı sonuçları alınmaktadır (Şekil 4).

Şekil 4. Mikrodizin ile gen ekspresyonu



Genlerin ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan bu metot tıpta önemli bir teşhis yöntemidir. Protein mikrodizinler proteomik ve sistem biyolojisi çalışmaları için önemlidir. **Doku mikrodizin** teknolojisi ile bir lam üzerindeki binlerce dokuda veya formalinde fikse edilip parafine gömülmüş hücre örneklerinde DNA ve RNA düzeyinde karşılaştırmalı sonuçlar ışık mikroskopu veya imaj analizi ile alınabilir. Doku mikrodizin teknolojisinde ~1000 farklı parafin doku örneğinden oluşturulan blokdan alınan keside hızlı, ekonomik ve bütün örneklerle aynı şartlarda uygulanan IHC ve ISH teknikleri ile sonuç alınırken kütle spektrometresi (MS) ile örnek sayısı 6000 üzerine çıkabilir. Mikrodizin teknolojisinin en yaygın kullanım alanlarından birisi *gen ekspresyon profilleri* yani transkriptomun izlenmesidir. Mikrodizinler çeşitli fizyolojik veya patolojik süreçlerde gen ekspresyon değişimlerini izlemek için kullanılmaktadır. Çeşitli koşullarda genlerin ekspresyon düzeylerindeki değişimler takip edilerek bu genlerin kodladığı proteinlerin fonksiyonları hakkında önemli ipuçları elde edilebilir. Mikrodizinler gen ekspresyon profillerinin yanı sıra polimorfizm analizinde, mutasyon analizinde, dizilemede ve evölüsyon çalışmalarında kullanılmaktadır. Ayrıca potansiyel terapötik ajanların bulunmasında, geliştirilmesinde ve klinik değerlendirmelerinde de yararlanılmaktadır.<sup>1,10-12</sup>

#### 4-Flow Sitometri (Akan Hücre Ölçer) Metodu

Flow sitometri metodunda akan bir sıvı örneğin, fosfat tamponu içerisinde hücre tipleri analiz edilebilir. Bu yöntemde monoklonal antikolar kullanılarak belli bir hücrenin ayırımı veya floresanla işaretleme yapmadan tam kan hücre sayımları yapılabilir. Flow sitometri metodu ile akışkan bir sıvı içerisinde hücrelerin hem boyut hem de yapısal özellikleri gibi birçok parametre için hızlı ve güvenilir sonuçlar alınabilir. Flow sitometri yönteminde periferik kan, kordon kanı, kemik iliği aspirasyon materyali, tüm vücut sıvılarındaki hücreler; bronkoalveolar lavaj, lomber ponksiyon ile alınan örnekler kullanılabilir. Hücrelerin sıvı içinde süspansiyon halinde bulunması gerektiğinden kan hücreleri flow sitometride en çok

incelenen hücrelerdir. Dokular ise parçalanıp hücre süspansiyonu şeklinde kullanılır. 1950'li yıllardan beri sürekli geliştirilen temel araştırma tekniklerinden biri olan flow sitometri akışkanlar, lazer optikler ve elektronik parçalar içerir. Süspansiyondaki hücreler tek tek bir kanaldan akarlar ve floresan yayarlar. Filtreler floresan ışığı toplar ve dijital değerler bilgisayara aktarılır. Lazer ışını önünden geçen hücreler absorpsiyon kırılma ve yansıtma özelliklerine sahiptirler. Bu nedenle optik akstan **dik açı** (90°) saçılımları hücre yapısı, granüllerine, **dar açı** saçılımı hücre büyüklüğünü hakkında bilgi verir. Tek tek geçen hücrelere içerdiği floresan miktarı ile orantılı negatif elektrik yükü verildiğinde düşük veya yüksek elektrik yükü içerenler ile yüksüz olan hücreler ayırılır. Bu yöntemde birden fazla lazer kullanılarak çok sayıda parametre incelenebilir. Floresanla aktifleşen hücre ayırıcısı (FACS) ile karışık hücre topluluğu içeren süspansiyonlar alt hücre gruplarına ayrılır.

DNA'ya bağlanan bir floresan boya ile inkübasyonu takiben flow sitometri yöntemiyle G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>+M hücre döngü evrelerinin süreleri gösterilebilir. **S+G<sub>2</sub>+M** fazındaki hücreler sentez fazı fraksiyonu (SPF) olarak tanımlanır. SPF'nin yüksek olması hücre çoğalma hızının yüksek olduğunu gösterir. Flow sitometri morfolojik olarak şüphelenilen çeşitli hastalıkları doğrulamakta, hastalık alt tiplerinin belirlenmesinde ve ayırıcı tanıda seçenekleri azaltmada kullanılabilir. Flow sitometrinin avantajı hücrelerin fiziksel olarak birbirlerinden ayrılabilmesidir. Dezavantajları nedeni ile flow sitometri sonuçlarının daima ışık mikroskopu ile birlikte değerlendirilmesi gerekir.

#### Sistem Biyolojisi

Sistem biyolojisi tüm deneysel verileri analiz ederek ve modelleme ile sonuca giden disiplinler arası araştırma alanıdır. Sistem biyolojisi gen, protein ve sinyal ileti yolak cevaplarına ilişkin verileri bir araya getirip matematiksel modellerle sistem yapısını tanımlar. Böylece sistem biyolojisi aracılığıyla çok sayıda benzer biyolojik veriler sayısal verilere dönüştürülerek sistemin yapısı hakkında bilgi edinilir. Sistem biyolojisi "omik" adı verilen örneğin; glikomik, lipomik, farmakogenomik, nütrigenomik, toksikogenomik, transkriptomik gibi tüm biyolojik alanları içerir. Sistem biyolojisinin hedefi, hücrenin veya canlının sanal temsilinin geliştirilmesidir. Sistem biyolojisi *proteom (protein+genom)* çalışmalarında kullanılan önemli bir metot protein mikrodizinlerdir. Hücrenin bütün içeriği birbirleriyle iletişim halinde olduğundan hücreyi anlamak için *sistem temelli* düşünmek gerekir. Sistem biyolojisi genleri, proteinleri, biyokimyasal tepkimeleri ve aynı zamanda bunların birbirleriyle etkileşimlerini bir bütün olarak ele alır. Örneğin; bağışıklık sisteminin hastalıklara veya enfeksiyonlara yanıt vermesi tek bir mekanizma veya tek bir gen ile açıklanamayacağından pek çok genin, proteinin, mekanizmanın ve organizmanın dış çevreyle etkileşimlerinin de birlikte değerlendirilmesi gerekir.

Araştırmaların deneysel bölümünde, biyolojik sistemdeki her bileşenin birbirleriyle olan ilişkisinin anlaşılmasının insanlar üzerinde gerçekleştirilmesi zor olduğundan günümüzde basit organizmalar model olarak örneğin; *Saccharomyces cerevisiae* (tomurcuklanan maya), *Neurospora* (mantar), *Caenorhabditis elegans* (yuvarlak solucan), *Drosophila melanogaster* (meyve sineği) kullanılmaktadır. Seçilen model organizmanın mevcut deneysel verileri için uygun yazılımlar kullanılarak matematiksel modeller önerilir ve deneysel verilerle sayısal simülasyonların karşılaştırılıp modelin değerlendirilmesiyle sistem hakkında bilgi edinilir.

Sistem biyolojisinin kullanım alanlarına fenotip-genotip ilişkisi, genotip ve çevresel faktörler arasındaki etkileşim, hastalık mekanizmasında sinyal iletim yolları, kantitatif proteomik gibi çalışmalar örnek verilebilir. Ayrıca sistem biyolojisi hastalık tanı ve tedavisinde ilaç geliştirme işlemleri, tasarımı yapılan ilaçların sanal ortamda hazırlanan modeller üzerinde denenmesini ve tedaviye yönelik yeni ajanların geliştirilmesini sağlar.

Sistem biyolojine örnek bir proje olarak 2007 yılında başlayan kanser genom atlas çalışmaları insan tümör tiplerinin moleküller benzerliği esas alınarak Pan-Cancer Atlas olarak 2018 yılında tamamlandı. Bu proje en yaygın 33 kanser çeşidinden ~11.000 tümörün analizi ile birçok gen ve gen ürünlerini inceleyerek insanlarda tümörlerin nasıl, nerede ve neden ortaya çıktığına dair kapsamlı ve birbirleriyle bağlantılı bir bilgi sunmaktadır.

### Model Organizmalar

Prokaryot bakteri; *Escherichia coli*, ökaryot organizmalardan tomurcuklanan maya; *Saccharomyces cerevisiae*, nematod; *Caenorhabditis elegans*, meyve sineği; *Drosophila melanogaster* ve fare; *Mus musculus* farklı konulara açıklık getirmek amacı ile araştırmalarda en fazla tercih edilen model organizmalardır. Tıpta çoğunlukla insana uygulanabilirlik açısından fare ve memeli hücrelerinin kullanıldığı kültür çalışmalarından elde edilen sonuçlar önemlidir. Fakat insanların sindirim sisteminde yaşayan *E. coli* bakterisi, hücre içi moleküller mekanizmaların birçok keşfinde öncelikle kullanılmıştır. Yaklaşık 6200 proteini kodlayan bir genomu sahip ökaryotik organizma *S. cerevisiae* insan hücrelerinde benzer işlevleri olan homolog bazı proteinler içerir. Aerobik veya anaerobik şartlarda büyüeyen bu maya mutantları genlerin tanımlanması için tercih edilmektedir. *C. elegans*, ~1000 hücreden oluşan bu hayvanın şeffaf vücut duvarına sahip olması floresan işaretleme ile mikroskopda incelenmesini kolaylaştırmaktadır. Ayrıca donmuş halde canlı kalması ve kolaylıkla çoğaltılması nedeni ile moleküler biyoloji ve genetik çalışmalarda kullanılmaktadır. *Drosophila* yani meyve sineği, laboratuvarında bir yumurta hücresinden birkaç günde erişkine dönüşen kompleks bir ökaryot canlıdır. Bu yüzden özellikle gelişimin moleküler biyolojisi, nörobiyoloji çalışmalarında tercih edilen bir hayvan olmuştur. Laboratuvar şartlarında farklı türleri kolaylıkla üretilen insana en yakın organizmalardan fareler üzerindeki araştırmalar insan öncesi çalışmalar için önemli katkı sağlamaktadır.<sup>1,3-8,13-17</sup>

### KİŞİSEL TIP

Sağlık alanında her bir kişinin genomik, klinik ve çevresel bilgilerine dayanan **kişisel tıp** hızla ilerlemektedir. Çeşitli hastalıklarda insanın moleküler profiline dayalı tedavi seçeneklerini öğrenmek kişiye özel tedavi yöntemlerinin belirlenmesine olanak sağlamaktadır. Kişisel tıbbın ilk uygulamalarına R. Ottenberg'in 1907 yılında ilk kez hemolitik tranfüzyon reaksiyonlarını önlemede kan gruplarını dikkate alması örnek verilebilir. Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz enzim eksikliği olan bireylerin sıtma ilacı olan primakin'e hassasiyetleri veya kişiye uygun antibiyotik uygulamaları da diğer örneklerdir. **Teranostik** tedavi edici ajan ile bu ajanın etkisini tanımlayan yöntemin birlikte kullanılması olup tedaviye yanıtın izlenmesine olanak verir. Örneğin, hastaların ~%60-70'i standart ilaç tedavisine yanıt vermektedir. Tedavi edici ajan eğer tanı testi pozitif olan hastalara verilirse kişisel tıp uygulanan hastada tedavinin başarısı garantilenmiş olur. İlaçlar bazı hastalarda daha faz-

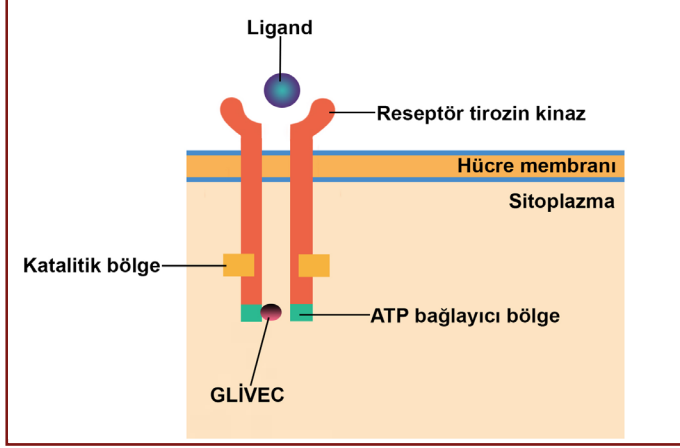
la toksik yan etki reaksiyonları gösterebilir. Bu nedenle kişisel ve özel moleküler hedeflere yönelik beslenme ve ilaç tedavisi planlanarak ilacın yan etki oranı düşürülebilir.

İnsan genom dizileme maliyetinin yıllar içinde azalması, genomik verilerin kullanımını kolaylaştırmıştır. İlaçların genler üzerindeki etkisini inceleyen farmakogenomik öncülüğünde günümüzde iki yüzden fazla ilaç tanımlanmıştır. **Farmakogenetik** ilaç yanıtının kişiye özgün olmasını sağlar. Farmakogenetik ilaç reseptörleri ile ilacı metabolize eden enzimlerin ve ilaç taşıyıcı moleküllerin genetik bilgiler ışığında doğru ve uygun dozda kullanımına imkân verir. Farmakogenetik ilaçların yan etkilerini ve gereksiz ilaç kullanımını önleyerek tedavi maliyetinin azaltılmasında önemlidir. Farmakogenomik belirteçler ile ilaç yan etkilerinin önlenmesine örnek, pıhtılaşma faktörlerini inhibe eden bir antikoagülan olan **varfarin** verilebilir. *CYP2C9* geni varfarin metabolizmasında iş gören VKORC1 (vitamin K epoksid redüktaz) enzimini kodladığı için *CYP2C9 2* ve *CYP2C9 3* alellerinden birini taşıyan genotiplerde enzim aktivitesi azalır ve ilaç konsantrasyonu artar. Genin başlatıcı bölgesinde -1639 G>A değişimi olan hastalara düşük doz varfarin verilmesi ile aşırı kanama gibi yan etkiler önlenmiş olur. Kişisel tıp kanser uygulamalarında bireyin genetik temelli mutasyonlarının, histopatolojik ve klinik özelliklerinin göz önüne alınması **kanser alt tiplerinin teşhisi ve tedavisi** için önemlidir. Kişisel tıp çalışmaları ile hastaya konulan tanıya uygun ilacın ve dozunun doğru zamanda verilmesi sağlanır. Kişisel onkoterapi klinik uygulaması kronik miyeloid lösemi, kolon, meme, akciğer kanseri ve melanom tedavisi için moleküler biyobelirteçler kullanılarak yapılmaktadır. Moleküller hedefli biyobelirteç ile tedavi örneğin; kronik miyeloid lösemi ve gastrointestinal sistem tümörleri için tirozin kinaz inhibitörleri iken EML4-ALK füzyona sahip akciğer kanserinde anaplastik lenfoma kinaz (ALK) inhibitörleridir. Hedefe yönelik tedavi ile kanser hücresini diğer hücrelerden ayıran mutasyonlar tespit edilir. BRAF mutasyonları melanomda önemlidir. Bu mutant yollar üzerinde bir hedef belirlenmesi sonucunda hedefe yönelik ilaç geliştirmeye çalışılır. Kanserde genetik ve genomik değişiklikleri saptamak kişisel tedavinin uygulanmasını kolaylaştırmaktadır. Örneğin, **kanserli** hastaların KRAS ve BRAF gen mutasyonları varsa cetuximab ve panitumumab tedavisine yanıt alınmamaktadır. Metastatik kolorektal kanser hastalarına epidermal büyüme faktör reseptör (EGFR) hedefli antikor tedavisine KRAS testinden sonra başlanması hasta başına harcanan maliyeti düşürmektedir.

İlk moleküler hedefli kanser ilaçları tirozin kinaz inhibitörleridir. İlaça cevap vermede genetik değişikliklerin rolüne en iyi örnek **küçük hücreli olmayan akciğer kanseridir**. Normal akciğer hücrelerine göre bu kanserli hücrelerde EGFR yüksek seviyede ekspresyedir. Bir transmembran sinyal proteini olan EGFR ligandına bağlanınca hücre içi domaininde tirozin fosforillenir. **Gefitinib** adlı ilk hedefli kanser ilacı bu tirozin kinaz aktivitesini inhibe eder. Gefitinib ile tedaviye EGFR geninde mutasyon içeren akciğer kanserli hastaların farklı yanıtlar verdiği saptanmıştır. Mutasyon pozitif hastalarda tirozin kinaz inhibitörü ile başarılı sonuçlar alınmaktadır. Tirozin kinaz bozukluğu ile ilişkili hematolojik tümörlerin tedavisinde kullanılan **imatinib mesylate** (glivec) ATP-bağlayıcı domaine bağlanır (Şekil 5). Akıllı ilaç tasarımı laboratuvar ortamında spesifik hedef moleküllerin inhibitörlerinin sentezlenmesidir. Örneğin, BCR-ABL onkogeni sadece kanser hücrelerine özgü anormal tirozin kinaz ürettiğinden glivec ilacı ile çok başarılı sonuçlar alınır. Fakat birçok kanser olgusu akıllı ilaçların etkinliği-

ni ortadan kaldıran ikinci mutasyon geliştirirler.

**Şekil 5.** Reseptör tirozin kinaz sinyal iletisi glivec ile engellenir



Tedavi edici ajan olarak humanized monoklonal antikor geliştirilmiştir. **Trastuzumab** adlı bu ilaç sadece kemoterapi uygulanan hastalarda daha iyi sonuç vermektedir. Meme kanseri, epigenetik düzensizlik ile birlikte çoklu gen mutasyonları birikiminin neden olduğu kompleks bir hastalıktır. Meme kanseri hastalarının bir alt tipi (%20-30) için hedefli tedavi mümkündür. Büyüme faktörü reseptör geni ErbB2 (HER2) onkogen amplifikasyonu yüksek olan meme kanseri hastalarında sağ kalım kısadır. Standart kemoterapi ile birlikte HER2'ye karşı monoklonal bir antikor olan trastuzumab uygulaması nüks riskini bu hastalarda %50'den fazla azaltmaktadır.

Yakın gelecekte DNA, RNA ve metilasyon dizileme verilerinin hepsi kullanılarak kanserin genomik analizi yüzlerce tümör için yapılabilecektir. Kanser hücreleri tarafından ekprese edilen proteine karşı genetik olarak değiştirilmiş T hücreleri kültürde çoğaltılarak hastaya verilir. CD19 ekspresyonu gösteren malign B hücrelerine karşı uygulanan **kimerik antijen reseptörü (CAR)-T hücre tedavisi** etkili kişisel tedaviye örnektir ve FDA tarafından 2017 yılında onay verilmiştir. CAR-T hücreleri yapay olarak tasarlanmış T hücresi reseptörleri ile tümör antijenlerinin tanınmasını sağlayarak hedef tümör hücrelerini tanıyarak öldürme yeteneğini arttırabilmektedir. Kişisel tıp uygulamaları hastalığa erken evrede kesin teşhis konulmasında, hastanın genetik profiline uygun ilaç kullanımında, toksik etkili veya düşük etkili ilaç kullanımının önlenmesinde, hasta memnuniyetinin artmasında ve sağlık giderlerinin azaltılmasında önemlidir.<sup>18-25</sup>

#### Klinik Önemi

Otoimmün hastalıklar ve kanser tedavisinde monoklonal antikorlar kullanılmaktadır.

Kişisel tedaviye örnek, CD19 ekspresyonu gösteren malign B hücrelerine karşı uygulanan kimerik antijen reseptör (CAR)-T hücre tedavisidir.

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Declaration of Interests:** The author declares that she has no competing interest.

#### Kaynaklar

- Hofmann A, Clokie S. Eds. *Wilson and Walker's Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*. Cambridge University Press, 2018. [\[Crossref\]](#)
- Tan WCC, Nerurkar SN, Cai HY, et al. Overview of Multiplex Immunohistochemistry/Immunofluorescence Techniques in the Era of Cancer Immunotherapy. *Cancer Commun (Lond)*. 2020 ;40(4):135-53. [\[Crossref\]](#)
- Alberts B, Heald R, Johnson A, et al. *Molecular Biology of the Cell*. 7th Ed. New York: W. W. Norton & Company, 2022.
- Pollard TD, Earnshaw WC, Lippincott-Schwartz J, Johnson GT. *Cell Biology*. 3rd Ed. Philadelphia, Elsevier, 2017.
- Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach*. 8th Ed. New York, Sinauer Associates, 2019.
- Hardin J, Bertoni G. *Becker's World of the Cell*. 9th Ed. England, Pearson Education Limited, 2018.
- Kierszenbaum AL, Tres LL. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*. 5th Ed. USA, Elsevier, 2020.
- Lodish H, Berk A, Kaiser C, et al. *Molecular Cell Biology*. 9th Ed. Macmillan Learning, 2021.
- Ulutin T, Onaran I, Güven M. eds. *Tıbbi Biyoloji Ders Kitabı 3*. bs. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul; 2017, 75-97.
- Chen Z, Dodig-Crnković T, Schwenk JM, Tao S. Current Applications of Antibody Microarrays. *Clin Proteomics*. 2018;15: [\[Crossref\]](#)
- Bolón-Canedo V, Alonso-Betanzos A, López-de-Ullibarri I, Cao R. Challenges and Future Trends for Microarray Analysis. *Methods Mol Biol*. Humana, New York, 2019;1986: 283-293. [\[Crossref\]](#)
- Koo M, Squires JM, Ying D, Huang J. Making A Tissue Microarray. *Methods Mol Biol*. 2019;1897: 313-23. [\[Crossref\]](#)
- Rodwell VW, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Weil PA. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 31st Ed. USA, McGraw-Hill Education, 2018.
- Chalfie M, Jorgensen EM. C. Elegans Neuroscience: Genetics to Genome. *Trends in Genetics*. 1998;14(12): 506-12. [\[Crossref\]](#)
- Henkel R, Hoehndorf R, Kacprowski T, Knüpfer C, Liebermeister W, Waltemath D. Notions of Similarity for Systems Biology Models. *Brief Bioinform*. 2017;18(5): 902. [\[Crossref\]](#)
- Tavassoly I, Goldfarb J, Iyengar R. Systems Biology Primer: The Basic Methods and Approaches. *Essays Biochem*. 2018;62(4): 487-500. [\[Crossref\]](#)
- Ho B, Baryshnikova A, Brown GW. Unification of Protein Abundance Datasets Yields A Quantitative Saccharomyces Cerevisiae Proteome. *Cell Systems*. 2018; 6:192-205. [\[Crossref\]](#)
- Jain KK. *Textbook of Personalized Medicine*. 3rd Ed. Springer Nature Switzerland AG, 2021. [\[Crossref\]](#)
- Jeibouei S, Akbari ME, Kalbasi A, et al. Personalized Medicine in Breast Cancer: Pharmacogenomics Approaches. *Pharmgenomics Pers Med*. 2019;12: 59-73. [\[Crossref\]](#)
- Walcher L, Kistenmacher A-K, Suo H, et al. Cancer Stem Cells-Origins and Biomarkers: Perspectives for Targeted Personalized Therapies. *Front Immunol*. 2020; 11:1280. [\[Crossref\]](#)
- Foksinska A, Crowder CM, Crouse AB, et al. The Precision Medicine Process for Treating Rare Disease Using the Artificial Intelligence

- Tool Medikanren. *Front Artif Intell.* 2022;30;5:910216. [\[Crossref\]](#)
22. Yang CY, Yang JC, Yang PC. Precision Management of Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Annu Rev Med.* 2020;71: 117-36. [\[Crossref\]](#)
23. Olivier M, Asmis R, Hawkins GA, Howard TD, Cox LA. The Need for Multi-omics Biomarker Signatures in Precision Medicine. *Int J Mol Sci.* 2019;20(19):4781. [\[Crossref\]](#)
24. Lee LY, Loscalzo J. Network Medicine in Pathobiology. *Am J Pathol.* 2019;189(7): 1311-26. [\[Crossref\]](#)
25. Goetz LH, Schork NJ. Personalized Medicine: Motivation, Challenges, and Progress. *Fertil Steril.* 2018;109(6): 952-63. [\[Crossref\]](#)

**IUC**  
UNIVERSITY  
**PRESS**