

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**AKCİĞER KANSERİNDE *RPS26P25* PSEUDOGENİNİN
HÜCRE CANLILIĞI, APOPTOZ VE HÜCRE DÖNGÜSÜ
ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

GÜLŞAH NUR ÜLGÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Bakiye GÖKER BAĞCA

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF-25011 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2025

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Gülşah Nur ÜLGÜ tarafından hazırlanan “Akciğer Kanseri RPS26P25 Pseudogeninin Hücre Canlılığı, Apoptoz ve Hücre Döngüsü Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 28/07/2025

Doç. Dr. Bakiye GÖKER BAĞCA	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Doç. Dr. Umut Kerem KOLAÇ	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Prof. Dr. Cumhur GÜNDÜZ	Ege Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanmasından sonuçlandırılmasına kadar geçen süreçte, değerli bilgi ve tecübeleriyle bana yol gösteren, bilimsel bakış açımı geliştirmemde büyük katkıları olan, her aşamada sabır, ilgi, yardım, anlayış ve hoşgörüsünü esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Bakiye GÖKER BAĞCA'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bana her konuda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen anabilim dalı hocalarım Prof. Dr. Mehtap KILIÇ EREN, Prof. Dr. Abdullah YALÇIN, Prof. Dr. Gizem DÖNMEZ YALÇIN, Prof. Dr. Ali ÖZMEN ve Doç. Dr. Umut Kerem KOLAÇ' a, ayrıca tezimi bilimsel olarak değerlendirmeyi kabul eden Prof. Dr. Cumhur GÜNDÜZ' e teşekkürlerimi sunarım.

Tez süreci boyunca, birlikte omuz omuza çalıştığım, en yoğun ve en stresli anlarda bile gülmeyi başarabildiğimiz, hem moral hem de pratik desteklerini hiç esirgemeyen değerli yüksek lisans ekip arkadaşlarım Badegül AKYOL ve Mehmet Can KATUKA' ya teşekkürü bir borç bilirim. Yorgun laboratuvar günlerinde paylaştığımız kahveler, sabahtan akşama kadar süren deneyler ve arada kaçırdığımız kahkaha molaları bu süreci daha katlanılır, hatta zaman zaman keyifli kıldı. İyi ki bu yolda yalnız yürümemişim.

Hayatımın her alanında olduğu gibi bu zorlu süreçte de sevgisi, sabrı ve desteğiyle yanımda olan, beni her koşulda motive eden canım babam Mehmet ÜLGÜ, annem Ayşe ÜLGÜ' ye, abim Onur Can ÜLGÜ, kardeşim Uğur Can ÜLGÜ' ye minnettarım.

Bu zorlu akademik yolculukta yanımda olan, neşemi, moralimi ve enerjimi hep yüksek tutan tüm arkadaşlarıma kalpten teşekkür ederim. İsimlerinizi tek tek yazamam çünkü o kadar çok ve değerli kişisiniz ki saymakla bitmez. Sayısız sohbetlerimiz, bazen kahkahalarla bazen de derin düşüncelerle dolu anlarımız, paylaştığımız destek ve anlayış olmadan bu süreci tamamlamak çok daha zor olurdu. Her birinizin varlığı bana güç verdi, iyi ki varsınız.

Bilim yolculuğumda bana katkı sağlayan, desteğini ve emeğini esirgemeyen tüm kişi ve kurumlara sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	1
TEŞEKKÜR.....	11
İÇİNDEKİLER.....	111
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	V11
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLOLAR DİZİNİ.....	X11
ÖZET.....	X111
ABSTRACT.....	XIV
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Araştırmanın Problem.....	1
1.2. Araştırmanın Sorusu.....	1
1.3. Araştırmanın Hipotezi.....	1
1.4. Araştırmanın Varsayımları.....	1
1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları.....	2
1.6. Araştırmanın Amacı.....	2
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kanser.....	3
2.1.1. Kanserin Temel Özellikler.....	3
2.1.2. Kanserin Kökeni.....	5
2.1.2.1. Genetik Mutasyonlar.....	5
2.1.2.2. Epigenetik Değişiklikler ve Gen İfadesi.....	5
2.1.2.3. Çevresel Faktörler ve Kanser Gelişimi.....	6

2.1.2.4. Tümör Mikroçevresi ve Kanser.....	6
2.1.2.5. Metastaz ve Kanserin Yayılması.....	6
2.2. Akciğer Kanseri.....	7
2.2.1. Epidemiyoloji.....	7
2.2.2. Risk Faktörleri.....	8
2.2.3. Sınıflandırma.....	8
2.2.4. Moleküler Temelleri.....	9
2.2.5. Tanı Yöntemleri.....	12
2.2.5.1. Klinik Belirtiler.....	12
2.2.5.2. Görüntüleme Teknikleri.....	12
2.2.5.3. Biyopsi ve Sitolojik İncelemeler.....	13
2.2.5.4. Moleküler Tanı Yöntemleri.....	13
2.2.5.5. Tedavi Yöntemleri.....	13
2.2.5.6. Prognoz ve İzlem.....	17
2.3. Pseudogenler.....	18
2.3.1. Pseudogenlerin Tanımı ve Genel Özellikleri.....	18
2.3.2. Kanser Biyolojisinde Pseudogenler.....	19
2.3.2.1. ceRNA Ağı ve MikroRNA Rekabeti.....	19
2.3.2.2. Epigenetik Mekanizmalar.....	20
2.3.2.3. Tümöre Özgü İmza ve Biyobelirteç Potansiyeli.....	21
2.3.2.4. Potansiyel Klinik Uygulamalar ve Gelecek Perspektifler.....	22
2.3.3. Akciğer Kanserinde Pseudogenler.....	22
2.3.3.1. Tanı ve Prognozda Pseudogenlerin Rolü.....	22
2.3.4. <i>RS26P25</i> Pseudogeni.....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25

3.1. Hücre Kültürü Çalışmaları.....	25
3.1.1. Kullanılan Hücreler.....	25
3.1.2. Farklı Akciğer Hücre Modellerinin Çoğaltılması ve Takibi.....	25
3.1.3. Hücrelerin Pasajlanması.....	26
3.1.4. Hücrelerin Dondurulması.....	26
3.1.5. Hücrelerin Çözülmesi.....	27
3.2. Hücre Modellerinde <i>RPS26P25</i> Pseudogeninin Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi.....	27
3.2.1. RNA İzolasyonu.....	27
3.2.2. RNA Miktarının ve Saflık Değerlerinin Ölçümü.....	28
3.2.3. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi.....	28
3.2.4. Kantitatif Ters Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR).....	28
3.3. Hücre Modellerinde <i>RPS26P25</i> Pseudogeninin Susturulması ve Validasyonu.	29
3.4. Sisplatinin Hücreler Üzerindeki Sítotoksik Etkisinin Belirlenmesi.....	30
3.5. Fonksiyonel <i>in vitro</i> Çalışmalar.....	31
3.5.1. <i>RPS26P25</i> Pseudogeninin Apoptoz Üzerindeki Etkisinin Belirlenmesi.....	31
3.5.2. <i>RPS26P25</i> Pseudogeninin Hücre Döngüsü Üzerindeki Etkisinin Belirlenmesi.....	32
4. BULGULAR.....	33
4.1. <i>RPS26P25</i> Geninin Ekspresyon Düzeyi.....	33
4.2. Hücre Modellerinde <i>RPS26P25</i> Pseudogeninin Susturulması ve Validasyonu.	33
4.3. Sítotoksosite Analizleri.....	34
4.4. Apoptoz Analizleri Sonuçları.....	35
4.5. Hücre Döngüsü Analizleri Sonuçları.....	42
5. TARTIŞMA.....	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	53

KAYNAKLAR.....	54
BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	61
ÖZGEÇMİŞ.....	62

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrat
A549	İnsan akciğer adenokarsinom hücre hattı
ALK	Anaplastik Lenfoma Kinaz
BRAF	B-Raf Proto-Onkogen
cDNA	Komplementer DNA
ceRNA	Rekabetçi Endojen RNA
cm²	Santimetrekare
CO₂	Karbondioksit
Ct	Eşik döngü
DDR2	Diskoidin Alanı Reseptör Tirozin Kinaz 2
dk	Dakika
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
DNMT	DNA Metiltransferaz
EGFR	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
EMT	Epitelyal- mezenkimal geçiş
ESMO	Avrupa Tıbbi Onkoloji Derneği
FGFR1	Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptör 1
FISH	Floresan in situ hibridizasyon
FITC	Floresin izotiyosiyanat
g	Yerçekimi ivmesi birimi

GLOBOCAN	Küresel Kanser Gözlemevi
HER2	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
IC₅₀	Yarı maksimal inhibisyon konsantrasyonu
KEAP1	Kelch-like ECH-associated protein 1
KHAK	Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
KHDAK	Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
KRAS	Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog
MAPK	Mitojen Aktif Protein Kinaz
MET	MET Proto-Onkogen, Hepatosit Büyüme Faktörü Reseptörü
mg	Miligram
miRNA	mikro RNA
ml	Mililitre
mRNA	Mesajcı RNA
NF-KB	Nükleer Faktör Kappa B
NGS	Yeni Nesil Dizileme
nM	Nanomolar
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
p53	Tümör baskılayıcı protein 53 (TP53 gen ürünü)
PBS	Phosphate Buffered Saline (Fosfat Tamponlu Salin)
PI	Propidium iodide
PIK3CA	Fosfatidilinositol-4,5-bisfosfat 3-kinaz katalitik alt birimi alfa
pmol	Pikomol
PTEN	Phosphatase and Tensin Homolog
PTENP1	PTEN Pseudogene 1

qRT-PCR	Kantitatif Ters Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAF	Rapidly Accelerated Fibrosarcoma
RAS	Rat Sarcoma Oncogene Family
RB1	Retinoblastoma 1
rcf	Bağıl Santrifüj Kuvveti
RET	Rearranged during Transfection
ROS1	ROS Proto-Oncogene 1, Receptor Tyrosine Kinase
RPL11	Ribozomal Protein L11
RPL5	Ribozomal Protein L5
rpm	Dakikadaki Devir
RPS26	Ribozomal Protein S26
RPS26P25	Ribosomal protein 26 pseudogen 25
s	Saniye
siRNA	Küçük Müdahaleci RNA
SOX2	SRY-Box Transcription Factor 2
STAT	Signal Transducer and Activator of Transcription
TCGA	Kanser Genom Atlası
TGF- α	Transforming Growth Factor-alpha
TNM	Tümör, Lenf Nodu, Metastaz
TP53	Tümör protein 53 genini kodlayan tümör baskılayıcı gen
μl	Mikro litre
μM	Mikro molar
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Akciğer kanserinin sınıflandırması.....	9
Şekil 2.	Akciğer kanseri sinyal iletim yolları.....	10
Şekil 3.	Kanser hücrelerinde sisplatin direncinin başlıca mekanizmaları.....	15
Şekil 4.	Sisplatin direnci ve metformin/kordisepin aracılı duyarlılık mekanizması.....	16
Şekil 5.	<i>RPS26P25</i> pseudogeni ile işlevsel <i>RPS26</i> geninin dizilimsel karşılaştırması...	24
Şekil 6.	A549 ve T2A hücre hatlarında sisplatinin sitotoksik etkisini belirlemek amacıyla kullanılan sisplatin konsantrasyonları.....	30
Şekil 7.	Apoptoz ve hücre döngüsü analizlerinde kullanılan deney gruplarını gösteren çalışma planı.....	31
Şekil 8.	A549 ve T2A hücre hatlarında qPCR analizi sonuçları.....	33
Şekil 9.	a.A549 ve b. T2A hücrelerinde anti- <i>RPS26P25</i> uygulamasına bağlı susturma validasyonu.....	34
Şekil 10.	a. A549 b.T2A hücrelerinde sisplatinin sitotoksisite grafikleri.....	35
Şekil 11.	A549 hücrelerinde <i>RPS26P25</i> ‘ in susturulmasının hücre canlılığı ve apoptoz üzerindeki etkisi a. Kontrol b. <i>RPS26P25</i> siRNA c. Negatif siRNA d. Sisplatin e. Sisplatin + <i>RPS26P25</i> siRNA	36
Şekil 12.	A549 hücrelerinde <i>RPS26P25</i> ’in susturulmasının hücre canlılığı ve apoptoz üzerindeki etkisinin özet görünümü.....	37
Şekil 13.	A549 hücrelerinde toplam apoptotik hücre oranları.....	37
Şekil 14.	T2A hücrelerinde <i>RPS26P25</i> ‘ in susturulmasının hücre canlılığı ve apoptoz üzerindeki etkisi a. Kontrol b. <i>RPS26P25</i> siRNA c. Negatif siRNA d. Sisplatin e. Sisplatin + <i>RPS26P25</i> siRNA.....	39
Şekil 15.	T2A hücrelerinde <i>RPS26P25</i> ’in susturulmasının hücre canlılığı ve apoptoz üzerindeki etkisinin özet görünümü.....	40

Şekil 16.	T2A hücrelerinde toplam apoptotik hücre oranları.....	41
Şekil 17.	A549 hücrelerinde <i>RPS26P25</i> ' in susturulmasının hücre döngüsü üzerindeki etkileri a. kontrol grubu b. <i>RPS26P25</i> siRNA c. Negatif siRNA d. Sisplatin e. Sisplatin + <i>RPS26P25</i> siRNA.....	42
Şekil 18.	A549 hücrelerinde hücre döngüsü fazları değişimi.....	43
Şekil 19..	T2A hücrelerinde <i>RPS26P25</i> ' in susturulmasının hücre döngüsü üzerindeki etkileri a. kontrol grubu b. <i>RPS26P25</i> siRNA c. Negatif siRNA d. Sisplatin e. Sisplatin + <i>RPS26P25</i> siRNA.....	46
Şekil 20.	T2A hücrelerinde hücre döngüsü fazları değişimi.....	47

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	Adenokarsinomda sık gözlenen genetik değişiklikler.....	11
Tablo 2.	Skuamöz hücreli karsinomda sık gözlenen genetik değişiklikler.....	11
Tablo 3.	Tümör baskılayıcı gen değişiklikleri.....	12
Tablo 4.	A549 hücrelerinde toplam apoptotik hücre oranı.....	38
Tablo 5.	A549 hücrelerinde <i>RPS26P25</i> susturulmasının apoptoz üzerindeki etkisi ve Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	38
Tablo 6 .	T2A hücrelerinde toplam apoptotik hücre oranı.....	40
Tablo 7.	T2A hücrelerinde gruplar arası toplam apoptotik hücre oranlarının Tukey'in çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmesi.....	41
Tablo 8.	A549 hücrelerinde <i>RPS26P25</i> uygulamasının hücre döngüsüne etkisi ve Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	44
Tablo 9.	T2A hücrelerinde <i>RPS26P25</i> uygulamasının hücre döngüsüne etkisi ve Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	48

ÖZET

AKCİĞER KANSERİNDE RPS26P25 PSEUDOGENİNİN HÜCRE CANLILIĞI, APOPTOZ VE HÜCRE DÖNGÜSÜ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Ülgü G. N. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2025.

Amaç: Bu çalışmada, *RPS26P25* adlı pseudogenin akciğer kanseri hücrelerindeki potansiyel rolü araştırılmış ve terapötik hedef olarak değerlendirilebilirliği incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada insan akciğer adenokarsinom hücre hattı (A549) ile sağlıklı Tip II alveol epitel hücre hattı (T2A) kullanılmıştır. Hücreler MEM besiyerinde kültürlenmiş, canlılık tripan mavisi ile izlenmiştir. *RPS26P25* ekspresyonu qPCR ile belirlenmiş, gen susturma siRNA ile gerçekleştirilmiştir. Susturma sonrası RNA izolasyonu yapılarak qPCR ile doğrulama yapılmıştır. Apoptoz ve hücre döngüsü akış sitometrisi ile değerlendirilmiştir. Sisplatin ile kombinasyon çalışmaları yürütülmüş, veriler GraphPad Prism yazılımı ile analiz edilmiştir.

Bulgular: *RPS26P25* pseudogeninin susturulması, A549 hücrelerinde toplam apoptotik hücre oranında %16,07'lik anlamlı artışa ($p < 0,0001$) neden olmuş; sisplatinle kombinasyonu ek %4,65 artış sağlamış ancak bu fark anlamlı bulunmamıştır ($p = 0,1016$). T2A hücrelerinde ise apoptoz %6,69 artmış ($p = 0,0101$), kombinasyonla %5,32 azalmıştır ($p = 0,052$). Hücre döngüsü analizinde, A549 hücrelerinde G0/G1 fazı artmış ($p = 0,0137$), S fazı azalmıştır. Sisplatin S fazında birikmeye yol açmış ($p < 0,0001$), bu etki gen susturmasıyla değişmemiştir. T2A hücrelerindeki uygulamalar ise G1, S ve G2 fazlarında anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır ($p > 0,05$).

Sonuç: *RPS26P25* pseudogeninin akciğer kanseri hücrelerinde apoptoz ve kemoterapiye duyarlılığı etkilediği gösterilmiştir. Bu bulgular, söz konusu pseudogenin terapötik hedef ve potansiyel biyobelirteç adayı olabileceğini desteklemektedir. Daha ileri *in vivo* ve klinik çalışmalar gereklidir.

Anahtar Kelimeler: Akciğer Kanseri, Apoptoz, Hücre Canlılığı, Pseudogen, RNA İnterferansı, Sisplatin

ABSTRACT

EVALUATION OF THE IMPACT OF RPS26P25 PSEUDOGENE ON CELL VIABILITY, APOPTOSIS, AND CELL CYCLE IN LUNG CANCER CELLS

Ülgü G. N. Aydın Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences, Medical Biology Program, Master's Thesis, Aydın, 2025.

Objective: This study aimed to investigate the potential role of the pseudogene *RPS26P25* in lung cancer cells and to evaluate its applicability as a therapeutic target.

Materials and Methods: Human lung adenocarcinoma cell line (A549) and healthy Type II alveolar epithelial cells were used. Cells were cultured in MEM medium, and viability was monitored by trypan blue exclusion. *RPS26P25* expression was determined by qPCR, and gene silencing was performed using siRNA. Following transfection, RNA isolation and qPCR were used to verify silencing efficiency. Apoptosis and cell cycle analyses were conducted via flow cytometry. Combination treatments with cisplatin were also performed. Data were analyzed using GraphPad Prism software.

Results: The silencing of the *RPS26P25* pseudogene resulted in a significant increase of 16.07% in the total apoptotic cell rate in A549 cells ($p < 0.0001$); its combination with cisplatin provided an additional 4.65% increase, but this difference was not found to be statistically significant ($p = 0.1016$). In T2A cells, apoptosis increased by 6.69% ($p = 0.0101$), while the combination led to a 5.32% decrease ($p = 0.052$). In cell cycle analysis, an increase in the G0/G1 phase was observed in A549 cells ($p = 0.0137$), accompanied by a decrease in the S phase. Cisplatin caused accumulation in the S phase ($p < 0.0001$), and this effect was not altered by gene silencing. In T2A cells, none of the treatments induced significant changes in the G1, S, or G2 phases ($p > 0.05$).

Conclusion: *RPS26P25* was shown to influence apoptosis and chemosensitivity in lung cancer cells. These findings suggest that this pseudogene may serve as a therapeutic target and a potential biomarker in lung cancer. Further *in vivo* and clinical studies are needed to elucidate its role in cellular signaling pathways and confirm its translational relevance.

Keywords: Apoptosis, Cell Viability, Cisplatin, Lung Cancer, Pseudogene, RNA Interference

1. GİRİŞ

1.1. Araştırmanın Problemi

Akciğer kanseri, tüm dünyada en sık görülen ve en fazla ölüme yol açan maligniteler arasında yer almaktadır. Hastaların büyük bir kısmı ileri evrede tanı almakta ve mevcut tedavi seçenekleriyle sınırlı yanıt alınabilmektedir. Özellikle kemoterapiye karşı gelişen direnç mekanizmaları, tedavi etkinliğini azaltmakta ve hastalığın seyrini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu nedenle, akciğer kanserinin altında yatan moleküler süreçlerin daha iyi anlaşılması, yeni biyobelirteçlerin ve tedavi hedeflerinin belirlenmesini gerekli kılmaktadır.

1.2. Araştırmanın Sorusu

Çalışmanın sorusu “*RPS26P25* pseudogeninin, akciğer adenokarsinomuna ait A549 hücre hattında hücre canlılığı, apoptoz, hücre döngüsü ve sisplatine karşı duyarlılığı üzerindeki etkileri nelerdir ve bu etkiler sağlıklı Tip II Alveol (T2A) hücre hattında da benzer şekilde gözlemlenmekte midir?” şeklinde belirlenmiştir.

1.3. Araştırmanın Hipotezi

Bu çalışmada, akciğer adenokarsinomuna ait A549 hücre hattında, seçilen bir pseudogen transkriptinin biyolojik etkileri değerlendirilmiştir. Söz konusu pseudogenin, hücre canlılığı, apoptoz, hücre döngüsü ve sisplatine karşı duyarlılık üzerindeki potansiyel etkileri *in vitro* hücre kültürü modelleri kullanılarak analiz edilmiştir. Ayrıca aynı deneysel protokoller, sağlıklı T2A hücre hattında da uygulanarak, elde edilen bulguların kansere özgü olup olmadığı değerlendirilmiştir.

1.4. Araştırmanın Varsayımları

Araştırmada kullanılan hücre hatlarının, akciğer kanseri ve sağlıklı alveol dokusunu *in vitro* ortamda temsil ettiği varsayılmaktadır.

1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları

Yalnızca bir kanser ve bir sağlıklı hücre hattı kullanılması, elde edilen sonuçların genellenebilirliğini sınırlamaktadır. Ayrıca çalışma sadece *in vitro* modelle sınırlı olup, *in vivo* koşullarda değerlendirme yapılmamıştır. Deneysel zaman aralıklarının sınırlı olması da başka bir sınırlılığı oluşturmaktadır.

1.6. Araştırmanın Amacı

Bu çalışmanın amacı, daha önce araştırılmamış olan *RPS26P25* pseudogenin akciğer kanseri hücre biyolojisindeki düzenleyici rolünün ortaya konması ve bu molekülün gelecekte potansiyel bir biyobelirteç veya terapötik hedef olarak değerlendirilebilmesi için ön veriler sunulmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Kanser, genomik stabilitenin bozulması ve hücresel proliferasyonun kontrolsüz bir şekilde artması sonucu ortaya çıkan, multifaktöriyel ve heterojen yapıda seyreden bir hastalık grubudur. Kanser için güncellenmiş bir tanım, kanser hücre popülasyonlarının başlatılması ve ilerlemesi üzerinde etkili olan doğal seçim kuvvetini içermelidir. Bissell ve Hines'e (2023) göre, güncel tanımda kanser; doğal seçim yoluyla evrimsel süreçlere tabi olan transforme hücrelerin sebep olduğu, kontrolsüz hücre proliferasyonu ile karakterize edilen bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. (Bissell ve Hines, 2023).

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2024 yılı verilerine göre, dünya genelinde yaklaşık 20 milyon yeni kanser vakası teşhis edilmiş ve 9,7 milyon kişi kansere bağlı nedenlerle yaşamını yitirmiştir. Bu veriler, kanserin küresel ölçekte ikinci en yaygın ölüm nedeni olduğunu göstermektedir (World Health Organization; 1 Şubat 2024).

2.1.1. Kanserinin Temel Özellikleri

Karsinogenez süreci, somatik mutasyonların birikimi, epigenetik yeniden programlamalar, sinyal iletim yollarındaki düzensizlikler ve tümör mikroçevresindeki dinamik etkileşimler ile şekillenmektedir (Siegel ve diğerleri., 2023).

Kanser, yalnızca genetik mutasyonlara dayalı bir hastalık değil, aynı zamanda epigenetik, metabolik ve mikrobiyal etkileşimlerle şekillenen çok katmanlı bir biyolojik süreçtir. Hanahan (2022), klasik sekiz kanser özelliğine ek olarak tümör hücrelerinin kazanabileceği yeni işlevsel boyutları tanımlamış ve böylece kanserin moleküler patogeneze dair anlayışımızı derinleştirmiştir. Kanser hücrelerinin temel özellikleri aşağıda özetlenmiştir:

Sürekli proliferatif sinyaller üretme: Kanser hücreleri, çevresel sinyallere bağımlı olmadan sürekli olarak bölünme sinyalleri üretir. Bu, tümörlerin büyümesini ve progresyonunu sürdüren temel mekanizmalardan biridir. Sürekli proliferasyon, hücrelerin genetik ve epigenetik değişimlere uğrayarak kontrolsüz şekilde çoğalmalarına neden olur.

Büyüme baskılayıcı sinyallerden kaçma: Kanser hücreleri, normalde hücre büyümesini durduran veya kontrol eden büyüme baskılayıcı sinyalleri yok sayar. Bu, özellikle *TP53* gibi tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu ile gerçekleşir ve hücrelerin çoğalmasını sürdürmesine olanak tanır.

Apoptozdan kaçınma: Kanser hücreleri, programlanmış hücre ölümü olan apoptozdan kaçma yeteneği kazanır. Bu özellik, hücrelerin hasar veya stres altında bile hayatta kalmalarını sağlar, böylece kanser hücreleri hayatta kalma ve çoğalma süreçlerini devam ettirir.

Replikatif ölümsüzlük: Kanser hücreleri, sınırsız bir şekilde bölünebilme kapasitesine sahip olurlar. Normal hücrelerde DNA kopyalanması sırasında telomer kısalması görülürken, kanser hücreleri telomeraz enzimi gibi mekanizmalarla telomerlerini yeniden uzatarak sınırsız bölünme yeteneği kazanır.

Anjiyogenezi indükleme: Tümörler, büyümek için yeni kan damarlarına ihtiyaç duyar. Kanser hücreleri, çevresindeki damarları büyütmek için anjiyogenezi sinyallerini aktive eder. Bu mekanizma, tümörlerin büyümesini destekler ve metastaz için yeni yollar açar.

İnvazyon ve metastaz yeteneği: Kanser hücreleri, çevrelerine invazyon yaparak kanserin bulunduğu organın dışında yayılabilirler. Bu özellik, kanserin daha ileri evrelere geçişini sağlar ve organlar arasında yeni kanser odaklarının oluşmasına neden olur.

Enerji metabolizmasında yeniden programlama: Kanser hücreleri, enerji üretimini geleneksel oksidatif fosforilasyon yerine glikoliz yoluyla gerçekleştirmeye yönelir. Bu, Warburg etkisi olarak bilinir ve kanser hücrelerinin hızlı bölünme için daha fazla enerjiye sahip olmalarını sağlar.

Bağışıklık sisteminden kaçınma: Kanser hücreleri, bağışıklık sisteminin saldırılarından kaçmak için çeşitli stratejiler geliştirmiştir. Bu mekanizmalar, tümör hücrelerinin bağışıklık hücreleri tarafından tanınmasını engeller, böylece bağışıklık sistemi tarafından yok edilmeden varlıklarını sürdürebilirler.

Fenotipik plastisite: Kanser hücreleri, fenotipik özelliklerini değiştirerek çevresel faktörlere adapte olabilme yeteneğine sahiptir. Bu, epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) gibi süreçlerle hücrelerin metastaz potansiyelini arttırmalarını sağlar ve tedaviye karşı direnç geliştirmelerine olanak tanır.

Epigenetik yeniden programlama: Kansere hücreleri, genetik mutasyonlar olmaksızın, DNA ve histon modifikasyonları aracılığıyla gen ekspresyonunu değiştirebilir. Bu epigenetik değişiklikler, hücrelerin tümöral özellikler kazanmasını sağlar ve kanserin prognozunu etkileyebilir (Hanahan 2022).

2.1.2. Kanserin Kökeni

Kanserin kökenine dair birçok farklı görüş bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, kanserin yalnızca rastgele mutasyonlar sonucu ortaya çıkan bir hastalık olmadığını, aksine hücre içi ve dışı faktörlerin karmaşık etkileşimlerinin sonucu olarak şekillendiğini göstermektedir. Bu bakış açısına göre, kanserin gelişimi yalnızca genetik hatalarla açıklanamayacak kadar dinamik ve çok yönlüdür. Jassim, Rahrmann, Simons ve Tumber (2023), kanserin moleküler biyolojisini daha derinlemesine anlamamıza ve tedavi stratejilerini buna göre optimize etmemize olanak sağladığını belirtmektedir.

2.1.2.1. Genetik Mutasyonlar

Kanserin temelinde, hücrelerin genetik materyalinde meydana gelen kalıcı değişiklikler yer alır. Bu değişiklikler, proto-onkogenlerin onkogenlere dönüşümü ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu gibi mekanizmalarla hücrelerin kontrolsüz şekilde çoğalmasına neden olur. Özellikle, hücre döngüsünü düzenleyen genlerdeki mutasyonlar, kanser gelişiminin erken evrelerinde önemli bir rol oynar. Bu mutasyonlar, hücrelerin DNA replikasyonu sırasında hatalı çoğalmasına ve genomik instabiliteye yol açar. Ayrıca, DNA onarım mekanizmalarının bozulması, kanser hücrelerinin genetik hasarları onaramamasına ve bu nedenle tümör oluşumunun hızlanmasına neden olabilir (Hanahan ve Weinberg, 2011; Chaffer ve Weinberg, 2011).

2.1.2.2. Epigenetik Değişiklikler ve Gen İfadesi

Epigenetik değişiklikler, DNA dizisinde herhangi bir değişiklik olmaksızın gen ekspresyonunun düzenlenmesidir. Kansere hücrelerinde, histon modifikasyonları ve DNA metilasyonundaki değişiklikler, tümör baskılayıcı genlerin susturulmasına ve onkogenlerin

aktive olmasına yol açar. Örneğin, Histon H4' ün asetilasyonu ve metilasyonu gibi modifikasyonlar, kanser hücrelerinde farklılık gösterir ve bu değişiklikler tümör progresyonu ile ilişkilidir. Ayrıca, Histon H2A.Z' nin yüksek ekspresyonu, kanser hücrelerinde genetik instabiliteyi artırarak tümör oluşumunu teşvik eder (Joyce ve Pollard, 2009).

2.1.2.3. Çevresel Faktörler ve Kanser Gelişimi

Çevresel etmenler, kanserin oluşumunda önemli bir rol oynar. Sigara, radyasyon, kimyasal maddeler ve enfeksiyonlar gibi faktörler, hücrelerde genetik hasara yol açarak kanser riskini artırır. Örneğin, sigara içmek, akciğer kanseri başta olmak üzere birçok kanser türünün gelişiminde önemli bir risk faktörüdür. Ayrıca, hava kirliliği ve endüstriyel kimyasallara maruz kalmak da kanser riskini arttıran çevresel faktörler arasında yer alır (Lewandowska ve diğerleri., 2018).

2.1.2.4. Tümör Mikroçevresi ve Kanser

Tümör mikroçevresi (TME), kanser hücrelerini çevreleyen hücreler, bağ dokusu ve damarlar gibi bileşenleri içerir. TME, kanser hücrelerinin büyümesini, yayılmasını ve tedaviye yanıtını etkileyen dinamik bir ortamdır. TME' deki hücreler, kanser hücrelerinin invazyonunu ve metastazını teşvik edebilir. Ayrıca, TME' nin bağışıklık hücreleri, fibroblastlar ve kan damarları gibi bileşenleri, tümörün gelişiminde ve tedaviye yanıtında önemli rol oynar (Verhelst ve diğerleri., 2022).

2.1.2.5. Metastaz ve Kanser Yayılması

Metastaz, kanser hücrelerinin ana tümörden ayrılarak vücudun diğer bölgelerine yayılması sürecidir. Bu süreç, kanserin ölümcül hale gelmesinin başlıca nedenlerinden biridir. Metastaz, kanser hücrelerinin invazyon, intravazyon, dolaşım ve yeni bir mikroçevrede büyüme aşamalarını içerir. TME, bu aşamaların her birinde önemli bir rol oynar ve metastatik yayılmayı teşvik edebilir (Chaffer ve Weinberg, 2011).

2.2. Akciğer Kanseri

Akciğerler, torasik boşluk içerisinde sağ ve sol olmak üzere konumlanmış, yaşam için elzem olan organlardır. Sağ akciğer üç, sol akciğer ise iki lobdan oluşur. Temel işlevleri arasında, alveoler düzeyde oksijenin kana alınması ve metabolik atık olan karbondioksitin atılması yer alır. Trakeadan ayrılan bronşlar, bronşiolle ve sonrasında alveollere dallanarak gaz değişiminin gerçekleşmesini sağlar. Bu süreç, ventilasyon, difüzyon ve perfüzyon mekanizmalarının koordineli çalışmasıyla yürütülür. Alveoller, tek katlı yassı epitel hücreleriyle çevrili olup, yüzey gerilimini azaltan surfaktan salgısı sayesinde açık kalır (Duma ve diğerleri., 2019).

Akciğer kanseri, akciğerin epitel dokusundan köken alan ve genellikle bronşiyal hücrelerde başlayan malign neoplazmalardır. Kanser hücreleri, normal hücre proliferasyon mekanizmalarından bağımsız şekilde çoğalarak çevre dokulara invazyon gösterebilir ve metastaz yapabilir. Hastalık, çoğunlukla ileri evrelerde semptom verdiği için tanı konulduğunda sıklıkla sistemik yayılım göstermiştir. Moleküler düzeyde; tümör supresör genlerin inaktivasyonu ve onkogenlerin aktivasyonu bu patolojik süreci yönlendirir (Herbst ve diğerleri., 2018).

Bu bağlamda, akciğer kanseri, gerek prevalans gerekse prognostik seyri açısından en agresif solid tümörler arasında yer almakta ve halen erken tanıya yönelik biyobelirteç eksikliği nedeniyle klinik yönetimde zorluklar yaratmaktadır (Siegel ve diğerleri., 2023).

2.2.1. Epidemiyoloji

Akciğer kanseri, dünya genelinde hem insidans hem de mortalite açısından ön sıralarda yer almaktadır. 2020 yılında GLOBOCAN (Global Cancer Observatory – Küresel Kanser Gözlemevi) verilerine göre yaklaşık 2,2 milyon yeni vaka ve 1,8 milyon kansere bağlı ölüm bildirilmiştir (Sung ve diğerleri., 2021). Erkeklerde daha sık görülmekle birlikte, kadınlarda da insidans oranlarında artış gözlemlenmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde özellikle sigara tüketimindeki artış, hastalığın görülme oranlarını etkilemektedir. Akciğer kanseri, 2,5 milyon yeni vaka ile en sık teşhis edilen kanser türü olup, 1,8 milyon ölüm ile kanser kaynaklı ölümlerin başlıca nedenidir. Bu veriler, akciğer kanserinin erken tanı ve etkili tedavi

stratejilerine olan ihtiyacın önemini vurgulamaktadır (World Health Organization; 1 Şubat 2024).

2.2.2. Risk Faktörleri

Akciğer kanserinin etiyolojisinde en belirgin risk faktörü, sigara ve diğer tütün ürünlerinin kullanımıdır. Sigara dumanı içerisinde yer alan polisiklik aromatik hidrokarbonlar, nitrozaminler ve ağır metaller gibi karsinojen bileşikler, hücresel düzeyde DNA hasarı oluşturarak tümör gelişimini tetikler. Bununla birlikte, radon gazı maruziyeti, asbest ve diğer endüstriyel ajanlara (örneğin, silika, arsenik, krom) mesleki maruziyet, hava kirliliği, aile öyküsü ve bazı genetik varyasyonlar (örneğin, *TP53* ve *EGFR* mutasyonları) da hastalığın gelişiminde rol oynamaktadır (Duma ve diğerleri., 2019).

2.2.3. Sınıflandırma

Akciğer kanserleri histopatolojik olarak üç ana gruba ayrılır (Şekil 1):

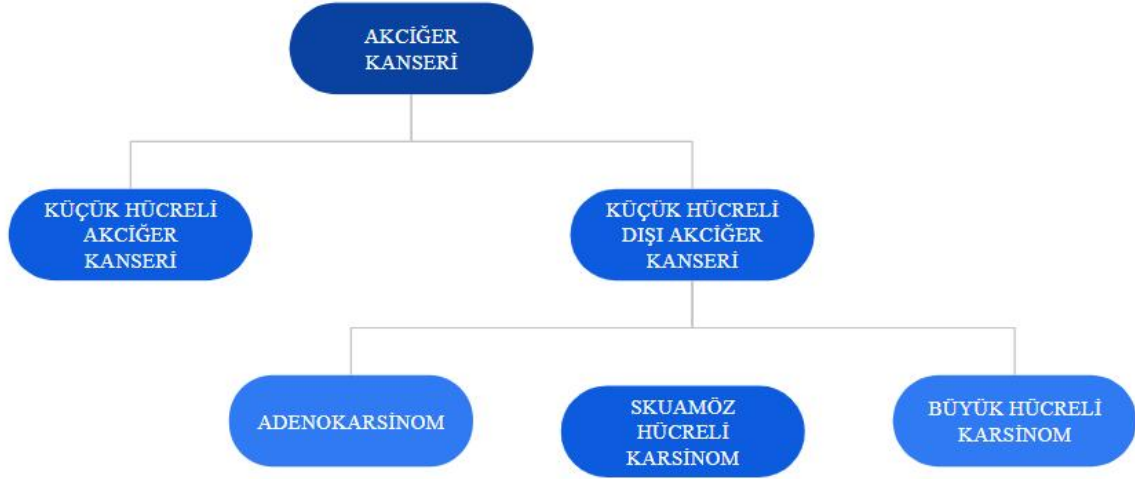
Küçük Hücreli Akciğer Kanseri: Tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %15'ini oluşturur. Hızlı çoğalma ve erken metastaz yapma eğilimi ile karakterizedir. Genellikle santral yerleşimli olup sigara kullanımı ile güçlü ilişkilidir. Tedaviye başlangıçta iyi yanıt verse de nüks oranı yüksektir. Standart tedavi kemoterapi ve radyoterapi kombinasyonudur (Herbst ve diğerleri., 2018).

Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri: Akciğer kanserlerinin %85' ini kapsar ve adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinom olmak üzere üç ana alt tipe ayrılır:

Adenokarsinom: En sık görülen alt tiptir, özellikle kadınlar ve sigara içmeyenlerde daha yaygındır. *EGFR* (Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü), *ALK* (Anaplastik Lenfoma Kinaz), *ROS1* (ROS Proto-Oncogene 1) gibi hedeflenebilir moleküler değişiklikler sık görülür.

Skuamöz Hücreli Karsinom: Genellikle santral bronşlarda lokalizedir, sigara kullanımı ile yakından ilişkilidir.

Büyük Hücreli Karsinom: Nadir görülen, hızlı büyüme gösteren alt tiptir (Hanna ve diğerleri., 2020).



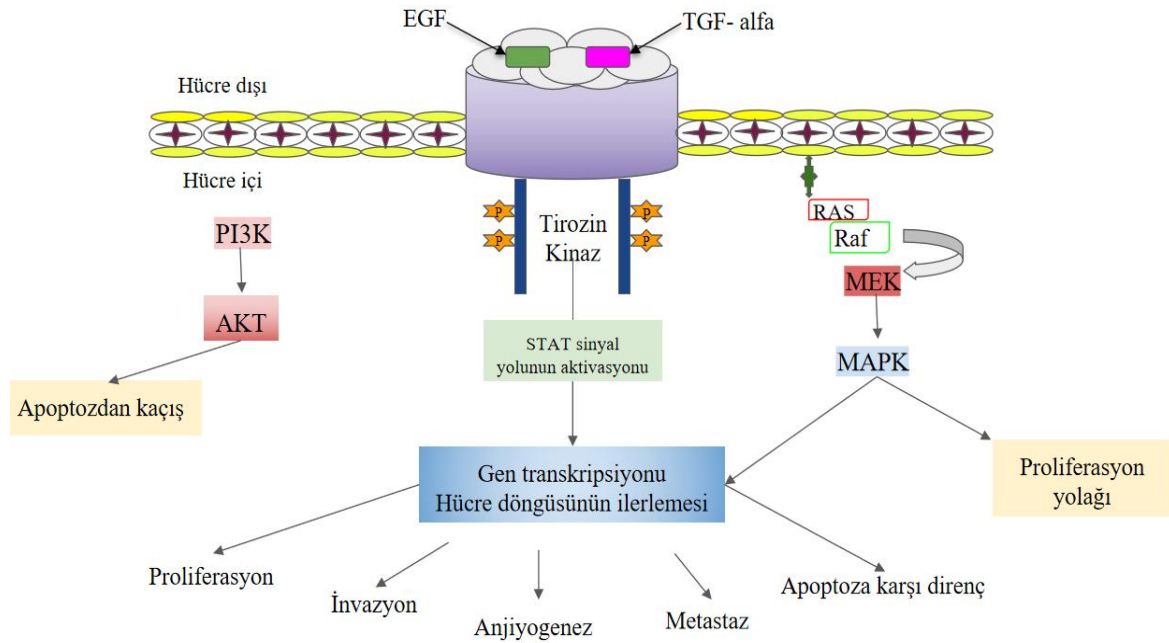
Şekil 1. Akciğer kanserinin sınıflandırması

2.2.4. Moleküler Temelleri

Akcığer kanseri, genetik ve epigenetik düzeyde çok çeşitli moleküler değişikliklerin birikimiyle karakterize edilen kompleks bir malignitedir. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri bu hastalığın en yaygın formunu oluşturmakta olup, özellikle adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinom alt tipleri üzerinde moleküler hedefleme stratejileri gelişmektedir. Adenokarsinomda sıklıkla rastlanan *EGFR* mutasyonları, tirozin kinaz inhibitörleri (*TKI*ler) ile tedaviye duyarlılık göstermektedir. *EGFR* mutasyonlarının yanı sıra *KRAS* (Kirsten rat sarcoma viral onkogen homologu), *ALK*, *ROS1* (ROS Proto-Onkogen 1), *RET*, *HER2* (İnsan Büyüme Faktör Reseptörü 2) ve *MET* (Hepatosit Büyüme Faktörü Reseptörü) gibi proto-onkogenlerde görülen mutasyonlar veya gen yeniden düzenlenmeleri, tümör hücrelerinin proliferasyon, apoptozdan kaçınma ve anjiyogenez gibi temel kanser özellikleri ile ilişkili sinyal yollarını aktive etmektedir (Cooper ve diğerleri, 2013; Şekil 2). Skvamöz hücreli karsinom alt tipinde ise genetik değişiklik spektrumu farklılık göstermekte olup, özellikle *PIK3CA* mutasyonları (Tablo 1) *FGFR1* amplifikasyonları ve *DDR2* değişiklikleri ön plana çıkmaktadır (Tablo 2). Bu moleküler alt grupların belirlenmesi, özellikle hedefe yönelik tedavi planlamalarında belirleyici olmakta ve klinik sonuçları doğrudan etkilemektedir. Öte

yandan, tümör baskılayıcı genlerde (örneğin *TP53*, *RBI*, *CDKN2A*, *LKB1/STK11*) gözlenen fonksiyon kayıpları, hücre döngüsü kontrolünün bozulmasına ve tümör ilerlemesine neden olmaktadır. Özellikle *TP53* mutasyonları, küçük hücreli dışı akciğer kanseri olgularının yaklaşık yarısında saptanmakta ve kötü prognozla ilişkilendirilmektedir (Cooper ve diğerleri., 2013) (Tablo 3).

Bu moleküler değişimlerin birçoğu, terapötik olarak hedeflenebilir biyobelirteçler haline gelmiş ve kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımının temelini oluşturmuştur. Ancak tedavi sırasında kazanılmış direnç mekanizmaları, örneğin *EGFR T790M* gibi ikincil mutasyonlar, tedavi etkinliğini sınırlandırarak yeni jenerasyon inhibitörlerin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. Bu nedenle, akciğer kanserinin moleküler temellerine dair bilgiler, sadece patogeneze anlamında değil, aynı zamanda prognostik ve prediktif parametrelerin belirlenmesinde de kritik bir rol oynamaktadır (Cooper ve diğerleri., 2013).



Şekil 2. Akciğer kanseri sinyal iletim yolları

Tablo 1. Adenokarsinomda sık gözlenen genetik değişiklikler

Gen	Değişiklik Türü	Klinik Önemi / Hedeflenebilirlik
EGFR	Aktivasyon mutasyonları	<i>TKI</i> tedavisine duyarlı; en sık ekzon 19 delesyonu ve <i>L858R</i> mutasyonu
KRAS	Nokta mutasyonları	Tedaviye direnç; yeni nesil <i>KRAS-G12C</i> inhibitörleri geliştirilmektedir
ALK	<i>EML4-ALK</i> füzyonu	<i>ALK</i> inhibitörleri (kristotinib, alectinib) ile hedeflenebilir
ROS1	Gen füzyonu	<i>ROS1</i> inhibitörleri (crizotinib) ile tedavi edilebilir
RET	Gen füzyonu	<i>RET</i> inhibitörleri (selpercatinib) kullanılabilir
HER2 (ERBB2)	Gen amplifikasyonu veya insersiyon	Trastuzumab ve <i>TKI</i> 'ler ile hedeflenebilir
MET	Gen amplifikasyonu ve ekzon 14 skipping mutasyonu	<i>MET</i> inhibitörlerine yanıt gösterebilir
BRAF	<i>V600E</i> mutasyonu	<i>BRAF</i> inhibitörleri (dabrafenib) ile tedavi seçeneği olabilir

Tablo 2. Skuamöz hücreli karsinomda sık gözlenen genetik değişiklikler

Gen	Değişiklik Türü	Klinik Önemi / Yorum
FGFR1	Gen amplifikasyonu	%20'ye varan oranlarda; <i>FGFR</i> inhibitörleri potansiyel tedavi seçeneği
PIK3CA	Mutasyon	<i>PI3K/Akt</i> yolunun aktivasyonu; hedeflenebilirliği araştırılmaktadır
DDR2	Mutasyon	Dasatinib'e duyarlı olabileceği gösterilmiştir
SOX2	Gen amplifikasyonu	Hücre farklılaşmasında görevli; biyobelirteç potansiyeli taşır
TP63	Aşırı eksprese edilir	Hücre proliferasyonu ile ilişkilidir; tanısal belirteç olarak önemlidir

Tablo 3. Tümör baskılayıcı gen değışiklikleri

Gen	Değişiklik Türü	Açıklama
<i>TP53</i>	İnaktivasyon mutasyonu	Hücre döngüsünün bozulmasına yol açar
<i>RBI</i>	Fonksiyon kaybı	Hücre döngüsü kontrolünün kaybı ile ilişkilidir
<i>CDKN2A</i>	Silinme veya metilasyon	Hücre döngüsü regülasyonunun bozulması
<i>STK11 (LKB1)</i>	İnaktivasyon	Hücre metabolizmasını ve polaritesini etkiler
<i>KEAP1</i>	Mutasyon	<i>Nrf2</i> yolu üzerinden antioksidan yanıt bozulur

2.2.5. Tanı Yöntemleri

2.2.5.1. Klinik Belirtiler

Akciğer kanseri, çoğu zaman ileri evrelere kadar belirti vermeyebilir. Ancak zamanla ortaya çıkan inatçı öksürük, kanlı balgam, göğüs ağrısı, nefes darlığı ve açıklanamayan kilo kaybı gibi semptomlar hastalığın habercisi olabilir. Merkezde bulunan tümörler bronşlarda tıkanmaya neden olurken, akciğerin dış kısımlarındaki tümörler ise genellikle akciğer zarında tahrişe yol açar (Herbst ve diğerleri., 2018).

2.2.5.2. Görüntüleme Teknikleri

Akciğer kanserinin görüntüleme ile değerlendirilmesi son yıllarda hem teknik hem de analitik açıdan ilerleme kaydetmiştir. LDCT (Düşük Doz Bilgisayarlı Tomografi), özellikle riskli gruplarda tarama amacıyla kullanılarak erken tanıya olanak sağlamakta ve ölüm oranlarını azaltmaktadır (Tárnoki ve diğerleri., 2024). PET-CT (Pozitron Emisyon Tomografisi-Bilgisayarlı Tomografi), metabolik aktivitelerin ve olası yayılımların belirlenmesinde önemlidir. MR (Manyetik Rezonans) ise özellikle beyin metastazlarının tespitinde, bilgisayarlı tomografiye kıyasla daha net görüntüler sunmaktadır (Travis ve diğerleri., 2015). Yeni gelişen yöntemlerden biri olan radyomik analiz, görüntüler üzerinden sayısal veriler elde ederek tümör yapısını anlamaya çalışmaktadır. Radyogenomik ise bu verileri genetik bilgilerle birleştirerek tümör alt tiplerini invaziv olmayan yollarla tanımlamayı

hedeflemektedir (Tárnoki ve diğ erleri., 2024). Ayrıca yapay zekâ tabanlı sistemler, nodül tespiti ve değerlendirilmesinde uzmanlara destek sağlamaktadır (Baidya Kayal ve diğ erleri., 2023).

2.2.5.3. Biyopsi ve Sitolojik İncelemeler

Tanının doğrulanabilmesi için patolojik örnekleme şarttır. Bu amaçla bronkoskopi eşliğinde yapılan transbron iyal biyopsiler, BT veya ultrason rehberliğinde yapılan iğne aspirasyonları gibi minimal invaziv yöntemler yaygın olarak tercih edilmektedir. Sitolojik  rneklemelelerde ise balgam, bronkoalveoler lavaj ya da plevral sıvıdan elde edilen hücreler, morfolojik tanıyı desteklemektedir (Silvestri ve diğ erleri., 2013).

2.2.5.4. Moleküler Tanı Yöntemleri

Moleküler düzeyde yapılan testler, akciğer kanseri tedavisinin ki iselle tirilmesini mümkün kılmıştır. Özellikle *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *MET* ve *RET* gibi genlerdeki mutasyonların saptanması, hedefe yönelik tedavi seçiminde belirleyici rol oynamaktadır. Yeni nesil dizileme (NGS), floresan *in situ* hibridizasyon (FISH), RT-PCR (Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ve immünohistokimya (IHC) gibi teknikler, tanısal süreçte moleküler düzeyde kapsamlı analizler yapılmasına olanak tanır (Lindeman ve diğ erleri., 2018).

2.2.5.5. Tedavi Yöntemleri

Cerrahi Müdahale: Akciğer kanserinin erken evrelerinde cerrahi müdahale, tedavi seçeneklerinin en etkili olanlarından biridir. Ancak, tümör baskılayıcı genlerdeki ( rneğin, *TP53* ve *RBI*) mutasyonlar, cerrahi tedavi sonrasında tümör nüksü riskini artırabilir. Bu nedenle, cerrahi müdahale planlamasında moleküler profillemeye önemli bir yer tutmaktadır. Moleküler analizler, tümörlerin biyolojik özelliklerini anlamak ve tedaviye daha etkili bir yaklaşım geliştirmek için kritik rol oynamaktadır (Lee ve diğ erleri., 2024).

Kemoterapi: Kemoterapi, özellikle ileri evre akciğer kanseri tedavisinde yaygın bir tedavi seçeneği olarak kullanılır. Kanser tedavisinde en sık kullanılan kemoterapi ajanları,

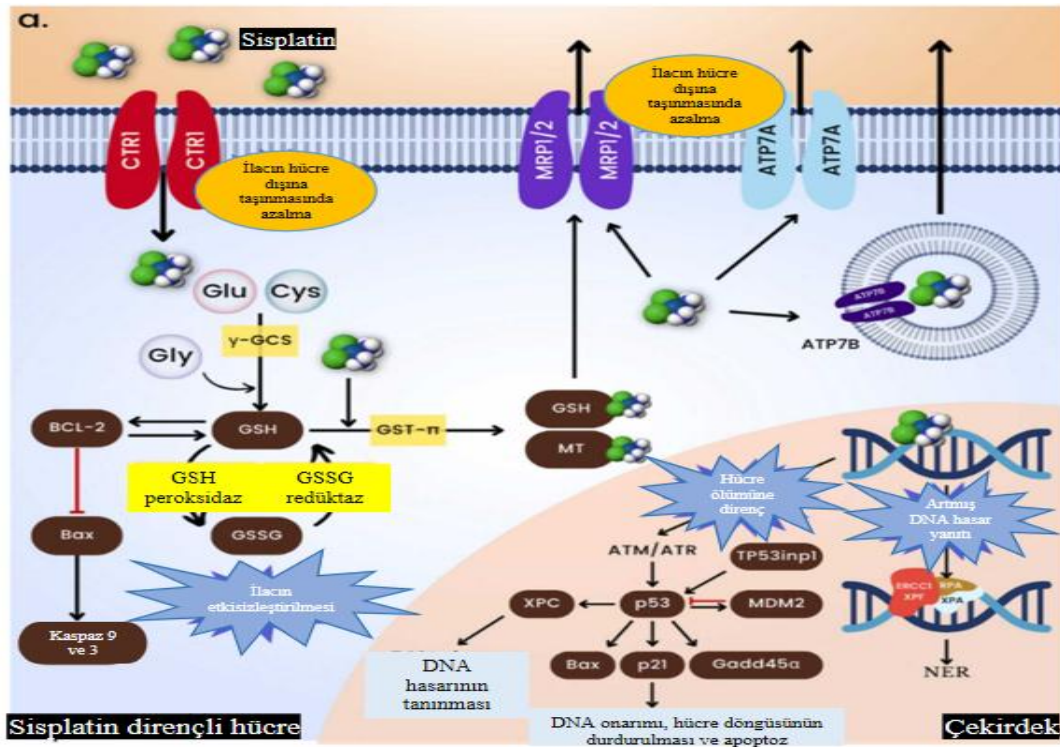
hücre bölünmesini durdurmakta ya da DNA'ya zarar verme yoluyla tümör büyümesini engellemektedir. Bu ajanlar kısaca şunlardır; Siklofosfamid, DNA alkilleme özelliği ile çeşitli kanser türlerinde tercih edilir. Doksorubisin, DNA baz çiftleri arasına girerek (interkalasyon) genetik yapıyı bozar. Paklitaksel ve dosetaksel, mikrotübül oluşumunu engelleyerek mitozu durdurur. 5-Fluorourasil (5-FU) ve metotreksat, DNA sentezini baskılayarak etki gösterir. Vinkristin ise mitotik iğ ipliklerini bozarak hücre bölünmesini engeller (Lee ve diğerleri., 2024).

Sisplatin: Sisplatin, DNA'nın nükleotit dizileri arasında kovalent bağlar oluşturarak DNA'nın çift sarmal yapısını bozar ve hücre bölünmesini engeller. Bu DNA çapraz bağları, hücre döngüsünü durdurarak apoptoz mekanizmasını aktive eder (Kelland, 2007). Sisplatin, başta küçük hücreli dışı akciğer kanseri olmak üzere birçok solid tümörün tedavisinde yaygın olarak tercih edilen kemoterapi ajanlarından biridir. Tümör hücrelerinin proliferasyonunu azaltması ve tümör kitlesini küçültmedeki etkinliği nedeniyle standart tedavi protokollerinde önemli yer tutar (**Dasari ve Tchounwou, 2014; Huang ve diğerleri., 2021**). Bununla birlikte sisplatinin kullanımı önemli yan etkilerle sınırlıdır. En yaygın ve ciddi komplikasyonlardan biri nefrotoksisite olup, böbrek dokusunda hasar oluşturarak böbrek fonksiyonlarının bozulmasına yol açabilir (Pabla ve Dong, 2008). Ayrıca işitme kaybı, periferik nöropati, bulantı, kusma ve kemik iliği baskılanması diğer önemli yan etkiler arasında yer alır (Perşe, 2021). Bu toksisiteler tedavi başarısını olumsuz etkileyebileceğinden, sistemik tedavilerin yerine hedefe yönelik tedavi stratejilerinin geliştirilmesi önemlidir.

Bunlarla birlikte, genetik ve epigenetik değişiklikler kemoterapiye karşı direnç gelişmesine yol açabilir. Sisplatin, etkili bir kemoterapötik ajan olmasına rağmen, birçok tümör tipinde zamanla gelişen direnç, tedavi başarısını sınırlayan önemli bir sorundur. Bu direncin gelişiminde çeşitli hücresel ve moleküler mekanizmaların rol oynadığı bildirilmektedir. Öncelikle, DNA hasar onarım mekanizmalarının artışı, sisplatinin sitotoksik etkisinin ortadan kalkmasına yol açmaktadır. Bu bağlamda, özellikle NER (nükleotid eksizyon tamiri) yolakta görev alan *ERCC1* ve *XPA* gibi genlerin aşırı ekspresyonu, DNA'daki platin adductlarının etkin şekilde onarılmasını sağlayarak hücreyi apoptozdan korumaktadır.

Ayrıca, sisplatinin hücre içine girişinin azalması veya hücre dışına etkin şekilde atılması da dirençte belirleyici rol oynamaktadır. Hücre membranında yer alan *CTR1* adlı bakır

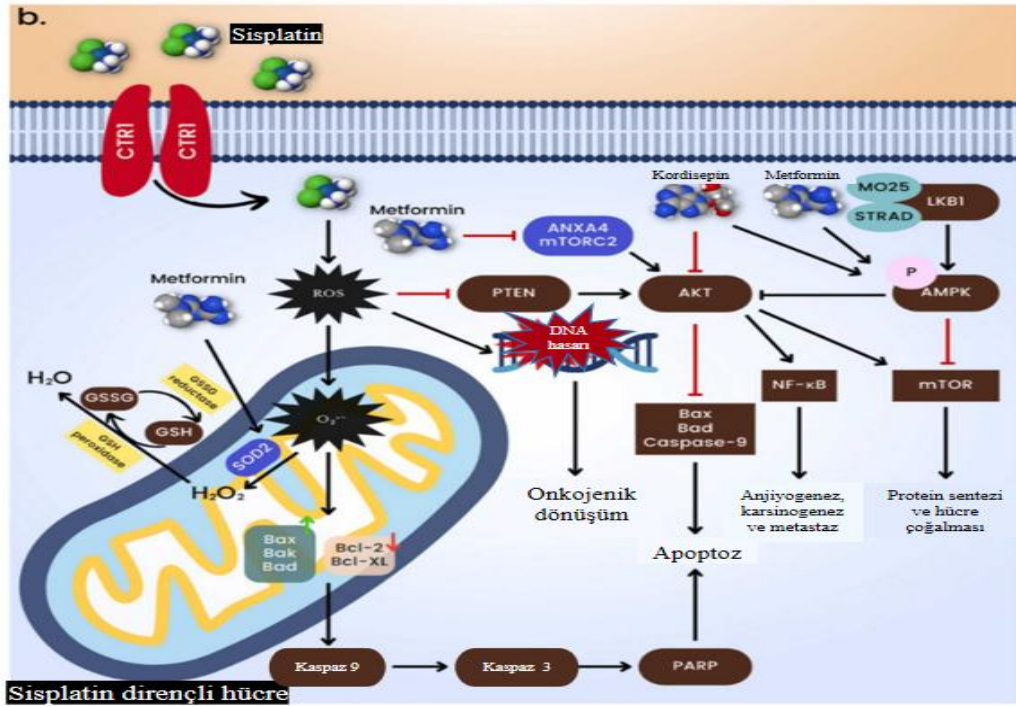
taşıyıcısının azalması, sisplatinin hücreye alımını sınırlandırırken; *ATP7A*, *ATP7B* ve *MRP2* gibi taşıyıcı proteinlerin artışı, ilacın hücre dışına atılımını kolaylaştırmaktadır. Apoptoz mekanizmalarının baskılanması, sisplatin direncinin bir diğer önemli bileşenidir. *BCL2* ve *MCL1* gibi anti-apoptotik genlerin artışı, hücre ölümünü engellerken; *TP53* gibi tümör baskılayıcı genlerdeki işlev kaybı, apoptoza yanıtın azalmasına neden olmaktadır. Buna ek olarak, dirençli hücrelerde otofaji aktivitesinin artması, sitotoksik strese karşı koruyucu bir yanıt oluşturarak sisplatinin etkisini azaltabilmektedir. Beclin-1 ve *ATG5* gibi otofajiyle ilişkili genlerdeki artış, bu süreci desteklemektedir (Şekil 3; Lee ve diğerleri., 2024)



Şekil 3. Kanser hücrelerinde sisplatin direncinin başlıca mekanizmaları (Lee ve diğerleri., 2024).

Son olarak, *PI3K/AKT/mTOR* ve *MAPK* gibi sinyal iletim yollarının aktivasyonu, hücre proliferasyonu ve hayatta kalımı teşvik ederek sisplatine karşı gelişen direncin sürdürülmesinde etkili olmaktadır. Bu durum, tedavi etkinliğini sınırlandırarak hastalığın ilerlemesine sebep olabilmektedir. Tedavi planlamasında genetik ve epigenetik faktörlerin dikkate alınması, tedaviye direnç gelişimini azaltabilmektedir. Öte yandan, bazı ajanlar kanser

hücrelerini sisplatine yeniden duyarlı hâle getirebilmektedir. Örneğin, metformin ve kordisepin, *SOD2* ve *ANXA4* ekspresyonunu etkileyerek *AKT* ve *AMPK* yolları üzerinden *mTOR* sinyallemesini inhibe eder, böylece dirençli hücrelerde sisplatinin etkisini artırmaktadır (Şekil 4; Lee ve diğerleri., 2024).



Şekil 4. Sisplatin direnci ve metformin/kordisepin aracılı duyarlılık mekanizması (Lee ve diğerleri., 2024)

Radyoterapi: Radyoterapi, cerrahi müdahale için uygun olmayan hastalarda ya da adjuvan tedavi olarak kullanılabilir. Ancak, tümör baskılayıcı genlerdeki kayıplar (örneğin, *FHIT* ve *p16^{INK4a}*) ve DNA onarım mekanizmalarındaki bozukluklar, radyoterapiye karşı direnç gelişmesine neden olabilmektedir (Lee ve diğerleri., 2024).

Hedefe Yönelik Tedaviler: Hedefe yönelik tedaviler, belirli genetik mutasyonlara sahip tümörlerde etkili olabilir. Ancak, tümör baskılayıcı genlerdeki mutasyonlar ve epigenetik değişiklikler, hedefe yönelik tedavilere karşı direnç gelişimine katkıda bulunabilir. Bu nedenle, tedavi seçiminde tümörün moleküler profili dikkate alınarak daha kişiselleştirilmiş tedavi planları oluşturulmalıdır (Lee ve diğerleri., 2024).

İmmünoterapi: İmmünoterapiler, özellikle immün kontrol noktası inhibitörleri, akciğer kanseri tedavisinde umut verici yeni yaklaşımlar arasında yer almaktadır. Bununla birlikte, tümör baskılayıcı genlerdeki değişiklikler, tümör mikroçevresini ve bağışıklık yanıtını etkileyerek immünoterapilere karşı direnç gelişimine neden olabilir. Bu durum, tedavi etkinliğini sınırlayarak hastalığın ilerlemesine neden olabilmektedir (Lee ve diğerleri., 2024).

Kişiyeye Özgü Tedavi Yaklaşımları: Kişiyeye özgü tedavi yaklaşımları, hastaların tümörlerinin genetik ve moleküler özelliklerine dayalı tedavi planlamasını içerir. Tümör baskılayıcı genlerdeki mutasyonlar, epigenetik değişiklikler ve miRNA profilleri, tedavi seçiminde önemli belirteçler olabilmektedir. Bu kişiselleştirilmiş tedavi stratejileri, tedavi etkinliğini artırarak hastaların prognozlarını iyileştirebilmektedir (Lee ve diğerleri., 2024).

2.2.6. Prognoz ve İzlem

Evreleme Sistemleri: Akciğer kanserinin evrelemesinde en yaygın kullanılan sistemlerden biri, IASLC (Uluslararası Akciğer Kanseri Çalışma Birliği) tarafından belirlenen TNM (Tümör, Lenf Nodu, Metastaz) sınıflamasıdır (Lee ve diğerleri 2024).

Sağkalım Oranları ve Etkileyen Faktörler: Akciğer kanseri hastalarının sağkalım oranları, hastalığın evresi ve tedaviye yanıt durumuna bağlı olarak büyük farklılıklar gösterebilmektedir. Erken evrelerde yapılan cerrahi müdahalelerle sağkalım oranları belirgin şekilde yüksektir, ancak hastalık ileri evrelere ilerledikçe bu oranlar düşüş göstermektedir. Modern tedavi yaklaşımları, özellikle küçük hücreli dışı akciğer kanseri tedavisinde sağkalım oranlarını artırmada önemli ilerlemeler kaydetmiştir. Bu tür gelişmeler, tedavi yöntemlerinin etkinliğini artırmış ve hastaların yaşam sürelerini uzatmıştır (Smith ve diğerleri., 2024).

Tedaviye Yanıt ve Takip: Tedavi sürecine verilen yanıtların izlenmesi, tedavi başarısının belirlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır. Akciğer kanseri tedavisinde hastaların düzenli olarak izlenmesi, tedavi sürecinin etkinliğini değerlendirmek ve erken dönemde olası nüksleri tespit etmek açısından önemlidir. Ulusal Kapsamlı Kansere Ağı (NCCN) ve Avrupa Klinik Onkoloji Derneği (ESMO) gibi onkoloji organizasyonları, tedavi sonrası hastaların takibini önerilen çok disiplinli bir yaklaşım çerçevesinde yapmayı tavsiye etmektedir. Ayrıca, immünoterapilere karşı verilen yanıtların değerlendirilmesinde iRECIST gibi yeni izleme

yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemler, tedavi süreçlerinin etkinliğini daha doğru bir şekilde izlemeye olanak tanımaktadır (Jungblut ve diğerleri., 2024).

2.3. Pseudogenler

2.3.1. Pseudogenlerin Tanımı ve Genel Özellikleri

Pseudogenler, evrimsel süreçler içerisinde protein kodlayan genlerin işlevini yitirmiş kopyalarıdır. Bu kopyalar, çeşitli moleküler bozulmalara maruz kalarak artık fonksiyonel proteinler üretme yeteneğine sahip değildir. Bu bozulmalar; çerçeve kaymaları (frameshift), erken stop kodonları (nonsense mutasyonlar), promotör bölgelerin kaybı ve intron–ekzon yapısındaki düzensizlikler nedeniyle ortaya çıkabilir (Pink ve diğerleri., 2011). İlk keşfedildiklerinde işlevsiz genetik kalıntılar olarak değerlendirilmiş olsalar da, genom ve transkriptom teknolojilerinin ilerlemesiyle birlikte, pseudogenlerin bir kısmının transkribe edilebildiği ve hatta düzenleyici roller üstlenebileceği anlaşılmıştır (Balakirev ve Ayala, 2003; Ji et al., 2015).

Yapısal olarak pseudogenler dört ana gruba ayrılır:

İşlenmemiş (non-processed) pseudogenler: Gen duplikasyonları sonucu ortaya çıkar ve özgün genin intronlarını, promotör bölgelerini ve diğer düzenleyici elementlerini büyük ölçüde korurlar.

İşlenmiş (processed) pseudogenler: mRNA' nın ters transkripsiyonu sonucu oluşurlar. Intron içermezler, promotör bölgeye sahip değildirler ve sıklıkla 3' poli-A kuyruğuna sahiptirler.

Tekil (unitary) pseudogenler: Bu grup, herhangi bir gen duplikasyonu olmaksızın, orjinal genin mutasyonlarla işlevini kaybetmesiyle oluşur (Zheng ve diğerleri., 2007).

Polimorfik pseudogenler: İşlev kaybına uğramış gen kopyalarının, popülasyon içinde farklı allelik formlarla bulunabilen türüdür. (Qian ve diğerleri, 2020)

Son yıllarda yapılan pseudogenomik çalışmalarda, insan genomunda yaklaşık 15.000'den fazla pseudogen tespit edilmiştir (Frankish ve diğerleri., 2021). Nakamura-García & Espinal-Enríquez (2023), bu pseudogenlerin %30'dan fazlasının transkripte edildiğini ve bazılarının

mikroRNA etkileşimlerinde önemli rol oynadığını göstermiştir. Hatta, ribozomal profil çalışmalarıyla bazı pseudogenlerin kısa peptitler kodlayabildiği de öne sürülmüştür, bu da onları işlevsiz genetik kalıntılar olmaktan çıkarıp biyolojik açıdan aktif unsurlar haline getirmektedir (Ji ve diğerleri., 2015).

2.3.2. Kanser Biyolojisinde Pseudogenler

Kanser, genetik yapıdaki değişimlerin ve epigenetik mekanizmaların birlikte ve aşamalı olarak işlediği karmaşık bir hastalıktır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, pseudogenlerin yalnızca inaktif gen kalıntıları olmadığını; aynı zamanda bazı durumlarda düzenleyici RNA'lar ya da kısa peptitler aracılığıyla kanserin moleküler yapısındaki işlevsel roller üstlenebileceğini göstermektedir. Bu moleküllerin etkileri, hücre çoğalması, apoptoz, damar oluşumu ve tümör yayılımı gibi temel biyolojik süreçleri çeşitli yollarla düzenleyebilmektedir (Tay ve diğerleri., 2014; Nakamura-García ve Espinal-Enríquez, 2023).

2.3.2.1. ceRNA Ağı ve MikroRNA Rekabeti

Pseudogenlerin en dikkat çekici rollerinden biri, onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerle olan etkileşimleri üzerinden gerçekleştirdikleri post-transkripsiyonel regülasyondur. Bu etkileşim genellikle ceRNA ağı (Rekabetçi Endojen RNA) yoluyla gerçekleşir. Pseudogen transkriptleri, hedef genle benzer 3' UTR bölgelerine sahip olduklarından, ilgili miRNA'lara bağlanarak bu miRNA'ların işlevlerini bloke eder. Bu mekanizma sayesinde, gerçek genin translasyon düzeyinin artmasına veya azalmasına neden olabilirler (Tay ve diğerleri., 2014).

PTEN–PTENP1 Etkileşimi: *PTEN* (Protein Tirozin Fosfotaz ve Tensin Homoloğu), hücre büyümesini ve hayatta kalmasını düzenleyen önemli bir tümör baskılayıcı gendir. *PTENP1* (Fosfataz ve Tensin Homolog Pseudogen 1) ise bu genin işlevsel olmayan bir pseudogenidir ancak 3'UTR bölgesi yüksek oranda homologdur. *PTENP1* transkripti, *PTEN*'i hedef alan miRNA'ları bağlayarak *PTEN* mRNA'sının translasyonunu korur. Bu durum, özellikle prostat, meme ve karaciğer kanserlerinde tümör baskılayıcı sinyallerin sürdürülmesinde hayati rol oynar (Poliseno ve diğerleri., 2010).

KRAS–KRASPI Etkileşimi: *KRAS* proto-onkogeni, *RAS/MAPK* (Rat Sarcoma Onkojen Ailesi/ Mitojen-Aktif Protein Kinaz) yolunun önemli bir bileşenidir. *KRASPI*, *KRAS* a benzer 3'UTR dizileri sayesinde onu hedef alan miRNA'larla yarışır. *KRASPI*'in artan ekspresyonu, *KRAS*'ın baskılanmasını engelleyerek hücre proliferasyonunu tetikleyebilir. Bu etki kolorektal ve pankreatik karsinomlarda daha belirgin hale gelir (Xu, Wang, ve Li, 2021).

HMGA1P6/HMGA1P7-HMGA1 Etkileşimi: *HMGA1*, kromatin yeniden düzenlenmesinde görevli ve birçok kanserde aşırı ekspresyon gösteren bir onkojenik faktördür. *HMGA1P6* ve *HMGA1P7* adlı pseudogenler, aynı miRNA hedefleme bölgelerine sahip olmaları nedeniyle *HMGA1*'in baskılanmasını engelleyerek invazyon ve metastaz süreçlerine katkı sağlar (Esposito ve diğerleri., 2014).

2.3.2.2. Epigenetik Mekanizmalar

Epigenetik, DNA dizisinde herhangi bir değişiklik olmaksızın gen ekspresyonunun değiştirilmesini sağlayan mekanizmaları ifade eder. Bu mekanizmalar başlıca DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve nükleozom yeniden düzenlenmeleri gibi süreçleri kapsar (Jaenisch ve Bird, 2003).

Kanserde epigenetik düzenleme, gen ekspresyonunun anormal biçimlerde yeniden yapılandırılmasına neden olur. Özellikle tümör baskılayıcı genlerde görülen promotör bölge hipermetilasyonu, bu genlerin transkripsiyonel olarak susturulmasına yol açabilir. Örneğin *p16INK4a*, *BRCA1* ve *MLH1* gibi genlerde yaygın olarak metilasyon aracılı inaktivasyon görülmektedir (Esteller, 2007).

Nakamura-García & Espinal-Enríquez (2023), bazı pseudogenlerin DNA metilasyon durumuna göre ekspresyon kazandığını ve bunun karşılıklı olarak gerçek genlerin ekspresyonunu da etkileyebileceğini göstermiştir. Özellikle hipometilasyona uğramış pseudogen bölgeleri, kanserli dokularda aşırı ekspresyon göstererek transkriptomda dengesizlik yaratabilir. Bu tür değişimler, özellikle immün yanıt, hücre döngüsü ve metabolik yollar üzerinde etkili olabilecektir (Nakamura-García ve Espinal-Enríquez, 2023).

Bununla birlikte, pseudogen ekspresyonu da epigenetik faktörler tarafından kontrol edilmektedir. Nakamura-García ve Espinal-Enríquez (2023), bazı kanser türlerinde hipometilasyona uğramış pseudogen bölgelerinin aşırı ekspresyon gösterdiğini ve bu durumun

transkriptom üzerinde dengesizlik yarattığını bildirmiştir. Özellikle hipometile pseudogen transkriptleri, miRNA rekabeti yoluyla onkogen veya tümör baskılayıcı genlerin ekspresyonunu dolaylı yoldan etkileyebilir. Örneğin; *PTENP1*'in promotör bölgesinde meydana gelen metilasyon değişimleri, hem kendi ekspresyon düzeyini hem de *PTEN* üzerindeki regülasyonu etkileyebilmektedir (Poliseno ve diğerleri., 2010). *KRASPI* pseudogeni, DNA metilasyonu yoluyla susturulduğunda, *KRAS* proto-onkogeninin miRNA aracılığıyla baskılanmasında bozulmalar meydana gelmektedir (Zheng ve diğerleri., 2022). Ayrıca, histon modifikasyonları da pseudogen ekspresyonunu düzenleyen başka önemli faktörlerdir. Epigenetik düzenlemelerin bu şekilde hem fonksiyonel genler hem de kodlamayan RNA'lar üzerindeki çift yönlü etkisi, kanserin moleküler heterojenitesini artırmaktadır (Neganova ve diğerleri., 2022).

2.3.2.3. Tümöre Özgü İmza ve Biyobelirteç Potansiyeli

Birçok büyük ölçekli çalışmada, özellikle TCGA' da (The Cancer Genome Atlas) kanser türlerine özgü olarak farklılaşan pseudogen ekspresyon profilleri tanımlanmıştır. Nakamura-García ve Espinal-Enríquez (2023), tümör tiplerine özgü 400'den fazla fonksiyonel pseudogeni tanımlamış ve bu genlerin hem tümör alt tiplerinin sınıflandırılmasında hem de prognoz tahmininde kullanılabileceğini bildirmiştir.

Örneğin, over kanseri hastalarında yapılan bir çalışmada, *RPL10P6*, *FAR2P4* ve *ARL4AP5* gibi pseudogenleri içeren 10 genlik bir imza, hastaların genel sağkalım süreleriyle anlamlı bir şekilde ilişkilendirilmiştir (Zhou ve diğerleri., 2021). Benzer şekilde, hepatosellüler karsinom hastalarında pseudogen çiftlerine dayalı bir prognostik model geliştirilmiş ve bu modelin hastaların sağkalım sürelerini tahmin etmede etkili olduğu gösterilmiştir (Du ve Gao, 2020).

Özellikle, bazı pseudogenlerin transkriptleri, tümör hücrelerinde aşırı ekspresyon göstererek hücre proliferasyonu, invazyon ve metastaz gibi süreçleri teşvik edebilmektedir. Örneğin, *DUXAP10* pseudogeninin gastrik kanser hücrelerinde aşırı ekspresyonu, hücre proliferasyonunu ve invazyonunu artırarak tümör progresyonuna katkıda bulunmuştur (Li ve diğerleri., 2018). Örneğin, akciğer skuamöz hücreli karsinom hastalarında yapılan bir çalışmada, belirli pseudogenlerin ekspresyon düzeyleri ile immünoterapilere yanıt arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur (Zhao ve diğerleri., 2023)

2.3.2.4. Potansiyel Klinik Uygulamalar ve Gelecek Perspektifler

Pseudogenlerin artan önemiyle birlikte, bu moleküller yalnızca biyobelirteç olarak değil, aynı zamanda terapötik hedef olarak da değerlendirilmeye başlanmıştır. Antisens RNA teknolojileri ve miRNA inhibitörleri aracılığıyla belirli pseudogen transkriptlerinin baskılanması, potansiyel olarak tümör büyümesini azaltabilir.

Bu tip etkileşimlerin sonucu olarak; tümör baskılayıcı yollar aktive edilebilir ya da baskılanabilir, hücre döngüsü düzenleyici genlerin ekspresyonu değişebilir ve apoptoz, anjiyogenez ve metastaz gibi süreçlerde regülasyon bozulabilir. Dolayısıyla pseudogenler, doğrudan protein üretmeseler bile, transkriptom düzeyinde genetik ağları yeniden yapılandıran önemli oyuncular haline gelmiştir.

2.3.3. Akciğer Kanseri Pseudogenler

Güncel araştırmalar, bazı pseudogenlerin akciğer kanseri ile ilişkili biyolojik süreçlerde aktif rol alabileceğini ve bu moleküllerin tanı, prognoz ya da tedavi süreçlerinde etkili olabilecek biyobelirteçler ve terapötik hedefler olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir (Dan ve diğerleri., 2025).

2.3.3.1. Tanı ve Prognozda Pseudogenlerin Rolü

Pseudogenlerin belirli dokulara özgü ekspresyon paternleri, özellikle akciğer kanseri gibi solid tümörlerde tanı amaçlı biyobelirteç olarak kullanılma potansiyeline sahiptir. Özellikle *OR7E47P* adlı pseudogenin, akciğer adenokarsinomundaki yüksek ekspresyonu, tümör mikroçevresinde immün yanıtı düzenleyerek metastatik süreci kolaylaştırdığı ve hastalığın kötü prognozuyla ilişkili olduğu saptanmıştır (Zhou ve diğerleri., 2023). Bu tür pseudogenlerin RT-qPCR gibi hassas tekniklerle tespiti, erken tanı ve hastalık takibinde fayda sağlayabilecek yeni nesil moleküler belirteçlerin geliştirilmesine olanak tanımaktadır (Zhou ve diğerleri., 2021).

Akciğer kanseri bağlamında, *PTENP1* adlı pseudogenin miRNA süngerisi olarak görev yaparak tümör baskılayıcı *PTEN* geninin regülasyonunu etkilediği gösterilmiştir. *PTENP1*'in ekspresyonundaki azalma, *PTEN* seviyelerini düşürmekte ve hücrel proliferasyonu artırarak tümör progresyonuna katkı sağlamaktadır (Poliseno ve diğerleri., 2010). Ayrıca, pseudogenlerin DNA metilasyonu gibi epigenetik yollarla susturulması, *DNMT* (DNA Metiltransferaz) inhibitörleri gibi epigenetik ilaçlarla birlikte kullanıldığında kemoterapiye duyarlılığı artırma potansiyeline sahiptir (Zhou ve diğerleri., 2021). Bu nedenle, pseudogenlerin farmakolojik olarak hedeflenebilir epigenetik modülatörler olarak değerlendirilmesi, özellikle tedaviye dirençli akciğer kanseri alt tiplerinde yeni terapötik yaklaşımlara kapı aralayabilecektir.

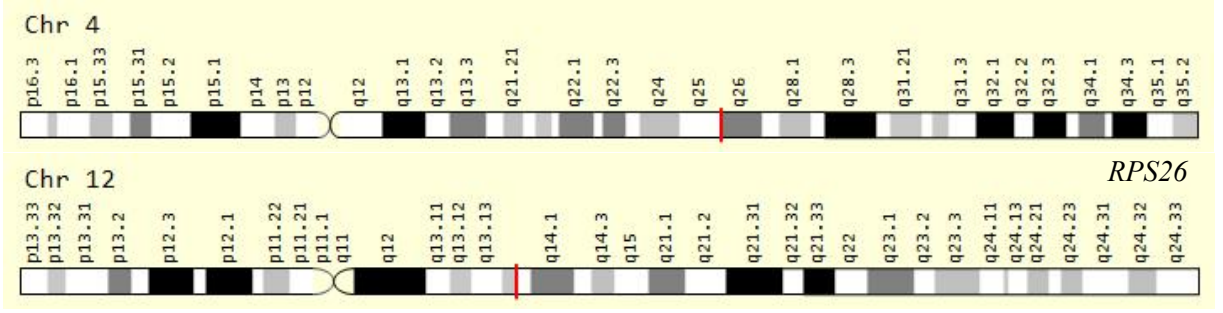
Tüm bu bulgular, pseudogenlerin sadece moleküler biyolojide değil, klinik onkoloji pratiğinde de kullanılabilecek yeni nesil biyobelirteçler ve hedef moleküller olduğunu göstermektedir. Akciğer kanseri gibi ölümcül tümörlerde, bu moleküllerin tanısal panellere eklenmesi ve hasta özelinde tedavi stratejilerinin belirlenmesi, kişiselleştirilmiş tıbbın gelişimine katkı sağlayacaktır (Dan ve diğerleri., 2025; Zhou ve diğerleri., 2021).

2.3.4. *RS26P25* Pseudogeni

RPS26P25, ribosomal protein *S26* pseudogen 25, insan genomunda bulunan ve protein kodlamayan ancak transkripsiyona uğrayabilen bir işlenmiş (processed) pseudogen olarak tanımlanmaktadır (National Center for Biotechnology Information [NCBI], 2025). Bu gen, kromozom 4'ün uzun kolunda (4q26) yer almakta ve yaklaşık 444 baz çiftinden oluşmaktadır (GeneCards, 2025).

Ribozomal protein genlerinin pseudogenleri, translasyon, hücre çoğalması ve tümör gelişimi gibi biyolojik süreçlerde regülasyon potansiyeline sahiptir. Ensembl verilerine göre bu pseudogen, ribosomal protein *S26* (*RPS26*) genine yüksek sekans benzerliği göstermektedir ve intron içermez, bu da retrotranspoze bir kökenden geldiğini gösterir (Ensembl, 2024) (Şekil 5)

Bu tezde, *RPS26P25* geninin yapısı, ekspresyon profili ve özellikle akciğer kanseri bağlamındaki potansiyel rolü incelenmiştir.



Şekil 5. *RPS26P25* pseudogeni ile işlevsel *RPS26* geninin dizilimsel karşılaştırması
(GeneCards, 2025)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hücre Kültürü Çalışmaları

3.1.1. Kullanılan Hücreler

Çalışmanın *in vitro* modelleri olarak A549 (ATCC; CCL-185) ve İnsan Tip II Alveol Primer Hücre Kültürü (T2A; Celprogen; Kat No:36076) ticari hücre hatları kullanılmıştır. A549 ve T2A hücre modellerinin özellikleri şöyledir; A549 hücre modeli epitel hücre olup, 58 yaşında, erkek ve karsinom hastalığına sahip bir hastadan alınmıştır. T2A hücre modeli epitel kökenli olup, farklı ve sağlıklı donörlerden alınan, akciğer- alveol hücre modelidir.

3.1.2. Farklı Akciğer Hücre Modellerinin Çoğaltılması ve Takibi

A549 ve T2A hücreleri, *in vitro* ortamda büyütülmüştür. Hücrelerin çoğalması için, ticari olarak temin edilen ve gerekli besin maddelerini içeren besiyeri kullanılmıştır. Bu besiyeri, MEM (Minimum Essential Medium) olarak bilinen temel bir ortamın yanı sıra, hücre büyümesi için elzem olan L-Glutamin, enfeksiyonları önlemek amacıyla penisilin-streptomisin ve FBS (Fetal Sığır Serum) içermektedir. Hücreler, adherent yapılarına uygun olarak, filtreli kapaklara sahip 75 cm²' lik özel flasklarda kültüre edilmiştir. Büyüme için, %95 nem ve %5 CO₂ içeren bir inkübatörde (NUAIRE), sabit 37°C sıcaklıkta tutulmuşlardır. Hücrelerin canlılığı ve çoğalma durumu, düzenli olarak inverted mikroskop (Olympus-CKX41) ile gözlemlenmiş ve canlılık testleri için tripan mavisi kullanılmıştır. Tüm işlemler, steril koşullar altında, laminar akış kabini (NUVE) gerçekleştirilmiştir. Bu sayede, kontaminasyon riski en aza indirilmiştir. Deneylerde, standart bir hücre popülasyonu sağlamak amacıyla, beşinci pasajdaki hücreler kullanılmıştır. Kullanılmayan hücreler, -80°C' de dondurularak saklanmış ve ihtiyaç duyulduğunda tekrar çözülerek kullanıma hazır hale getirilmiştir.

3.1.3. Hücrelerin Pasajlanması

Hücrelerin büyüme süreçleri, çoğalma hızları ve kültür kabı yüzeyinin doluluk oranı dikkate alınarak yakından takip edilmiştir. Kültür kabı yüzeyinin yaklaşık %80-90' ı hücrelerle kaplandığında, hücreler yeni kaplara pasajlanmıştır. Besiyeri düzenli olarak iki günde bir değiştirilmiştir. Hücrelerin yeni kaplara aktarılması veya besiyerinin yenilenmesi işlemleri şu adımları içermektedir: İlk olarak, hücrelerin üzerindeki besiyeri dikkatlice boşaltılmış ve hücreler serum içermeyen besiyeri ile 2 kez yıkanmıştır. Ardından, hücrelerin kültür kabı yüzeyinden ayrılması için üzerlerine 600 µl tripsin enzimi eklenmiş ve hücreler inkübatörde 5 dk bekletilmiştir. Tripsin etkisini durdurmak için, tripsin hacminin iki katı kadar serum içeren besiyeri eklenmiş ve karışım santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Tüpler, 1200 rpm'de 5 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüj işleminden sonra, süpernatant dikkatlice uzaklaştırılmış ve tüpün dibinde biriken hücreler (pellet) serum içeren besiyeri ile yeniden süspanse edilmiştir. Hazırlanan hücre süspansiyonu, uygun kültür kaplarına aktarılmış ve inkübatöre kaldırılmıştır.

3.1.4. Hücrelerin Dondurulması

Uygun şartlar altında çoğaltılan hücreler, gelecekteki deneylerde kullanmak üzere saklanmak amacıyla dondurulmuştur. Bu işlem, hücrelerin canlılığını koruyarak uzun süreli muhafazasını sağlamaktadır. Dondurulacak hücreler için izlenen prosedür şu şekildedir: İlk olarak, kültür kabındaki besiyeri dikkatlice uzaklaştırılmış ve hücreler serum içermeyen bir besiyeri ile iki kez yıkanmıştır. Ardından, hücrelerin yüzeyden ayrılması için üzerlerine 600 µl tripsin enzimi eklenmiş ve hücreler inkübatörde 5 dk süreyle bekletilmiştir. Tripsinin etkisini sonlandırmak için, tripsin hacminin iki katı kadar serum içeren besiyeri eklenmiştir ve karışım santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Tüpler, 1200 rpm hızında 5 dk boyunca santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Santrifüj işleminden sonra, süpernatant özenle uzaklaştırılmış ve tüpün dibinde toplanan hücreler (pellet) yeniden süspanse edilmiştir. Hazırlanan hücre süspansiyonuna, hacimce 1:9 oranında DMSO (Dimetil Sülfoksit) ve FBS içeren dondurma karışımından 1000 µl eklenerek cryo tüplere aktarılmıştır. Cryo tüpler, -80°C' ye yerleştirilerek hücrelerin dondurulması sağlanmıştır.

3.1.5. Hücrelerin Çözülmesi

-80°C’de saklanan hücreler, deneylerde kullanılmadan önce kademeli olarak çözülmüştür. İlk olarak, -20°C aktarılan cryo tüplerdeki hücreler, serum içermeyen besiyeri eklenerek dikkatlice pipet yardımıyla süspanse edilmiştir. Serumsuz besiyeri ile hazırlanan hücre süspansiyonu, 15 mililitrelik santrifüj tüplerine aktarılmış ve 1200 rpm hızında 5 dk boyunca 2 kez santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. İkinci santrifüj işleminden sonra, süpernatant dikkatlice uzaklaştırılmış ve tüpün dibinde biriken hücreler serum içeren taze besiyeri ile yeniden süspanse edilmiştir. Hazırlanan hücre süspansiyonu, uygun kültür kaplarına aktarılmıştır.

3.2. Hücre Modellerinde *RPS26P25* Pseudogeninin Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi

3.2.1. RNA İzolasyonu

A549 ve T2A hücrelerinden RNA izolasyonu için, hücrelerin kültür kaplarının yüzeyinin yaklaşık %80-90’ ını kapladığı zaman bir dizi işlem uygulanmıştır. İlk olarak, kültür kaplarındaki besiyeri uzaklaştırılmış ve hücreler serum içermeyen besiyeri ile yıkanmıştır. Daha sonra, hücrelerin parçalanması ve RNA’nın serbest bırakılması için hücrelerin üzerine 1 ml RiboEx (GeneAll) çözeltisi eklenmiş, hücre lizatı pipet yardımıyla iyice karıştırılmış ve oda sıcaklığında 5 dk süreyle bekletilmiştir. Ardından, karışım 4°C’ de, 12000 g (rcf) hızında 10 dk santrifüj işlemine tabi tutulmuş ve süpernatant yeni tüplere aktarılmıştır. Süpernatanta 0,2 ml kloroform eklenmiş, 15 s vortekslenmiş ve 2 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu aşamadan sonra, tüpler 4°C’de, 12000 g (rcf) hızında 15 dk santrifüj işlemine tabi tutulmuş ve oluşan üç fazdan üstteki şeffaf faz yeni tüplere aktarılmıştır. Daha sonra, tüplere 0,5 ml izopropanol eklenmiş ve yavaşça karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında 10 dk süreyle bekletilmiştir. Ardından, tüpler 4°C’de, 12000 g (rcf) hızında 10 dk santrifüj işlemine tabi tutulmuş ve süpernatant uzaklaştırılmıştır. Daha sonra, RNA çökeltisinin üzerine 1 ml %75’lik etanol eklenmiştir. 4°C’de, 7500 g (rcf) hızında 5 dk santrifüj işlemine tabi tutulmuş ve ardından etanol, çökeltiye zarar vermeden uzaklaştırılmıştır. Son olarak, RNA çökeltisine 50 µl RNaz içermeyen H₂O eklenmiş ve 56°C’ de 10 dk süreyle bekletilerek

özlmtr. İzolasyon tamamlandıktan sonra tüpler, daha sonra kullanılmak üzere -80°C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. RNA Miktarının ve Saflık Değerlerinin lm

A549 ve T2A hücrelerinden elde edilen RNA rneklerinin nitelik ve niceliği, spektrofotometre (Nabi) cihazı kullanılarak 260 ve 280 nm dalga boylarında ölçülen ışık emilim değerleri ile belirlenmiştir. RNA rneklerinin çalışmalarda kullanılabilir olması için, 260/280 nm oranının 1.80 ile 2.0 arasında olması gerekmektedir. Uygun kalite ve saflık değerlerine sahip olan örneklerden, komplementer DNA (cDNA) sentezi için gerekli miktarlar ayrılmış, geri kalan RNA rnekleri ise -80°C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.3. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi

RNA izolasyonu sonucunda elde edilen, istenen saflıkta olan RNA rnekleri WizScript™ cDNA Sentez Kiti (High Capacity, Wizbio) kullanılarak cDNA sentezi işlemine tabi tutulmuştur. Her bir örnek için, 10X Reaksiyon tamponundan 2 µl, 20X dNTP mix 1 µl, Random hekzamer 2 µl, WizScript™ Ters Transkriptaz 1 µl, RNaz İnhibitörü 0,5 µl ve total hacim 10 µl olacak şekilde RNaz içermeyen sudan 3,5 µl deney tüplerine aktarılmıştır. Hazırlanan reaksiyon karışımı, nazikçe pipetleme ile homojen hale getirilmiştir ve ters transkripsiyon işlemine kadar buz üzerinde bekletilmiştir. Reaksiyon karışımını içeren tüpler termal döngü cihazına alınıp 25°C’de 10 dk, 37°C’ de 120 dk ve 85°C’ de 5 dk inkübasyon yapılmıştır. Ters transkripsiyon işlemi tamamlandıktan sonra, elde edilen cDNA -20°C’ de bir sonraki aşamada kullanılmak üzere saklanmıştır.

3.2.4. Kantitatif Ters Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR)

Akciğer kanseri hücre hattı (A549) ile sağlıklı hücre hattı (T2A) arasındaki *RPS26P25* pseudogeninin gen ifadesindeki potansiyel farklılıkları ortaya koymak amacıyla, qPCR (Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi uygulanmıştır. Bu amaçla, daha önce sentezlenmiş cDNA örnekleri kullanılmıştır. Her bir hücre hattına ait cDNA örneğinden 1µl, 5 µl SYBR Green enzim ana karışımı, 10 µM konsantrasyonlu *RPS26P25* pseudogenine özgü

5'-CGAGCGTCTTCGATGCCTAT-3' primer dizili ileri (forward; F) ve 5'-AGCACCCGCAGGTCTAAATC-3' primer dizili geri (reverse; R) primerlerden 1'er µl ve 2 µl distile su eklenerek 10 µl'lik reaksiyon karışımları hazırlanmıştır. Hazırlanan bu karışımlar, gerçek zamanlı kantitatif PCR cihazında (BIO-RAD, CFX Connect Real-Time PCR Detection System) kantitatif ters transkriptaz PCR (qRT-PCR) işlemine tabi tutulmuştur. *RPS26P25* pseudogenine ait primerlerin yanı sıra, referans gen (housekeeping gen) U6 genine ait primerler, ileri (forward; F) 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3' ve geri (reverse; R) 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3' olarak kullanılmıştır. Her hücre hattı için elde edilen Ct değerleri normalize edilerek kanser hücrelerinde *RPS26P25* pseudogeninin sağlıklı hücrelere göre ifade düzeyi $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülü ile hesaplanmıştır. Her deney, üç tekrarla gerçekleştirilmiştir. Tekrarların Ct değerlerine Student's t-testi uygulanarak p değerleri elde edilmiştir. Kat değişiminin 2,00' den büyük ve p değerinin 0,05' ten küçük olduğu sonuçlar, anlamlı kabul edilmiştir.

3.3. Hücre Modellerinde *RPS26P25* Pseudogeninin Susturulması ve Validasyonu

Bu çalışmada, A549 insan akciğer adenokarsinom hücre hattında *RPS26P25* pseudogeninin susturulmasına yönelik deneysel süreç planlanmış ve uygulanmıştır. Hücreler, %10 FBS ve %1 antibiyotik (penisilin-streptomisin) içeren MEM besiyeri ile 37°C sıcaklıkta, %5 CO₂ içeren inkübatörde kültüre edilmiştir. Hücreler %70–80 konfluense ulaştığında deneysel işlemler gerçekleştirilmiştir.

Transfeksiyon işlemi için hücreler 6 kuyucuklu plakalara 5×10^5 hücre/1,5 ml Opti-MEM besiyeri yoğunluğunda ekilmiş ve %60–70 konfluense ulaştıklarında işleme alınmıştır. Her kuyu için son konsantrasyonu 30 pmol olacak şekilde siRNA ve 9 µl Lipofectamine RNAiMAX (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Katalog No: 13778030), 150 µl Opti-MEM içinde ayrı ayrı çözülmüş ve ardından 1:1 oranında karıştırılarak 5 dk inkübe edilmiştir. Hazırlanan 300 µl' lik karışım hücrelerin üzerine eklenmiş ve hücreler 48 saat boyunca inkübatörde tutulmuştur. İşlem yapılmamış hücreler negatif kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

RPS26P25 genine özgü siRNA dizilerinin tasarımı, siDirect version 2.0 (<http://sidirect2.rnai.jp/>) çevrimiçi aracı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Susturmanın başarısını değerlendirmek amacıyla işlem uygulanan ve uygulanmayan gruplardan RNA

izolasyonu yapılmış ve gen ekspresyon düzeyleri, 3.2.4' de detaylandırıldığı şekilde qPCR yöntemi ile analiz edilmiştir.

3.4. Sisplatinin Hücreler Üzerindeki Sitotoksik Etkisinin Belirlenmesi

Akciğer kanseri hücre hattı (A549) ve sağlıklı hücre hattı (T2A) üzerinde sisplatinin sitotoksik etkisini değerlendirmek amacıyla, IC₅₀ (yarı maksimal inhibisyon konsantrasyonu) değerleri belirlenmiştir. Bu amaçla, her iki hücre hattı da 96 kuyucuklu hücre kültürü plakalarına uygun besiyeri içerisinde, kuyucuk başına $3,2 \times 10^3$ hücre olacak şekilde ekilmiştir. Hücreler, 37°C sıcaklıkta, %95 nem ve %5 CO₂ içeren bir inkübatörde 24 saat süreyle çoğalmaya bırakılmıştır. Sisplatin (Koçak Farma) stok çözeltisinden (1,67 mM) seyreltmeler yapılarak 100 µM, 50 µM, 25 µM, 5 µM ve 1 µM konsantrasyonlarında çalışma çözeltileri hazırlanmıştır (Şekil 6). Hazırlanan sisplatin çözeltileri, hücrelere 24, 48 ve 72 saat süreyle 100 µl hacminde uygulanmıştır. İlaç uygulanmayan hücreler kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Her inkübasyon süresinin sonunda, hücre canlılığını ölçmek amacıyla MTT testi uygulanmıştır. MTT solüsyonu (5 mg/ml) PBS içerisinde hazırlanmış ve 1:10 oranında besiyeri ile seyreltilmiştir. Kuyucuklardaki besiyeri uzaklaştırılmış ve her bir kuyucuğa 100 µl MTT çözeltisi eklenmiştir. Plaka, 37°C' de inkübe edildikten sonra, çözelti uzaklaştırılmış ve kuyucuklara 100 µl DMSO eklenerek MTT formazan kristalleri çözülmüştür. 570 nm ve 630 nm dalga boylarında absorbands değerleri ölçülmüş ve elde edilen veriler Graphpad Prism yazılımı ile analiz edilmiştir. Sisplatinin her hücre hattı ve inkübasyon süresi için IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		100 µM	100 µM	100 µM	100 µM	100 µM	100 µM	100 µM	100 µM	100 µM		
C		50 µM	50 µM	50 µM	50 µM	50 µM	50 µM	50 µM	50 µM	50 µM		
D		25 µM	25 µM	25 µM	25 µM	25 µM	25 µM	25 µM	25 µM	25 µM		
E		10 µM	10 µM	10 µM	10 µM	10 µM	10 µM	10 µM	10 µM	10 µM		
F		1 µM	1 µM	1 µM	1 µM	1 µM	1 µM	1 µM	1 µM	1 µM		
G		Kontrol	Kontrol	Kontrol	Kontrol	Kontrol	Kontrol	Kontrol	Kontrol	Kontrol		
H		24 saat	24 saat	24 saat	48 saat	48 saat	48 saat	72 saat	72 saat	72 saat		

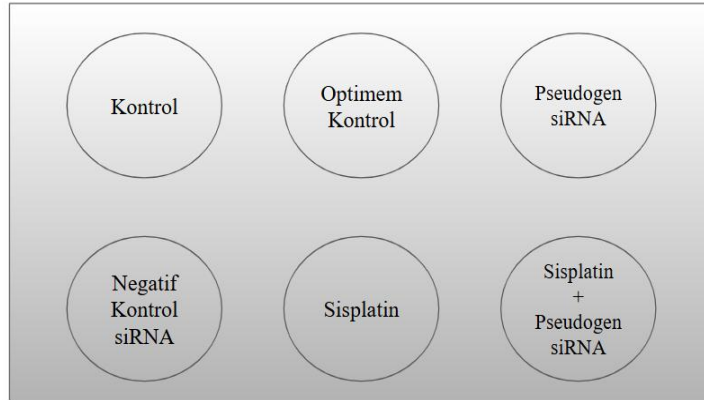
Şekil 6. A549 ve T2A hücre hatlarında sisplatinin sitotoksik etkisini belirlemek amacıyla kullanılan sisplatin konsantrasyonları

3.5. Fonksiyonel *in vitro* Çalışmalar

RPS26P25 pseudogeninin apoptoz ve hücre döngüsü üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacıyla hücreler 6 kuyucuklu plakalara 3×10^5 hücre/ kuyucuk yoğunluğunda ekilmiştir. Hücrelerin yüzeye tutunması için 24 saatlik inkübasyon periyodunun ardından her deney için 3 tekrarlı olacak şekilde deney grupları oluşturulmuştur.

3.5.1. *RPS26P25* Pseudogeninin Apoptoz Üzerindeki Etkisinin Belirlenmesi

Apoptoz düzeyinin belirlenmesinde Annexin V-FITC ve PI (propidium iodide) içeren çift boyama yöntemi uygulanmıştır (Elabscience, Katalog No: E-CK-A211). Kontrol (serumlu besiyeri), Opti-MEM kontrol (Opti-MEM içeren besiyeri), pseudogen siRNA, negatif kontrol siRNA, sisplatin ve sisplatinin IC₅₀ konsantrasyonunu içeren grupları olmak üzere toplam 6 grupta deney gerçekleştirilmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. Apoptoz ve hücre döngüsü analizlerinde kullanılan deney gruplarını gösteren çalışma planı

Transfeksiyondan sonraki 48. saatte hücreler toplanmış ve iki kez PBS ile yıkanmıştır. Ardından hücreler 500 µl bağlanma tamponu içerisinde süspanse edilmiş; her tüpe 5 µl Annexin V-FITC ve 5 µl PI çözeltisi eklenmiştir. Karanlık ortamda oda sıcaklığında 10–15 dk inkübe edilen hücreler, boyama işlemi tamamlandıktan sonra akış sitometrisi ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda, boyanma özelliklerine göre hücrelerin canlı, erken apoptoz, geç apoptoz ve nekrotik alt popülasyonlara dağılımı değerlendirilmiştir. Tüm işlemler üretici

fırmanın önerdiği protokol esas alınarak gerçekleştirilmiştir ve akım sitometrisi (NovoCyte Agilent) ile analiz edilmiştir. Her örnek için 20.000 hücre okuması yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda erken ve geç apoptoz oranları değerlendirilmiştir.

Deneyler üç biyolojik tekrar şeklinde yürütülmüş ve veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler için GraphPad Prism 8 yazılımı kullanılmıştır. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılmıştır. $p < 0,05$ olan sonuçlar anlamlı kabul edilmiştir.

3.5.2. *RPS26P25* Pseudogeninin Hücre Döngüsü Üzerindeki Etkisinin Belirlenmesi

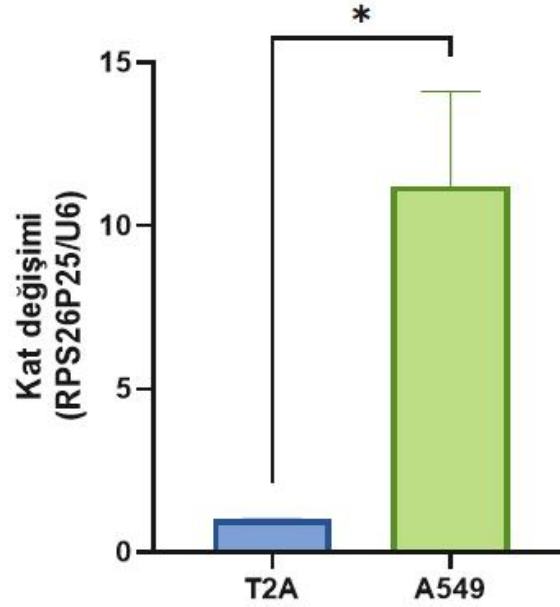
Hücre döngüsü analizi için PI (propidium iodide) içeren boyama yöntemi uygulanmıştır (Elabscience, Katalog No: E-CK-A351). Kontrol (serumlu besiyeri), Opti-MEM kontrol (Opti-MEM içeren besiyeri), pseudogen siRNA, negatif kontrol siRNA, sisplatin ve sisplatin + pseudogen siRNA grupları olmak üzere toplam 6 grupta deney gerçekleştirilmiştir (Şekil 5). Transfeksiyondan sonraki 48. saatte hücreler toplanmış, hücreler %70 etanol ile sabitlendikten sonra RNaz A ile inkübe edilmiş ve PI ile boyanmıştır. Bu işlem sonrasında akım sitometri (NovoCyte Agilent) kullanılarak G0/G1, S ve G2/M fazlarındaki hücre oranları belirlenmiştir.

Deneyler üç biyolojik tekrar şeklinde yürütülmüş ve veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler için GraphPad Prism 8 yazılımı kullanılmıştır. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılmıştır. $p < 0,05$ olan sonuçlar anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. *RPS26P25* Geninin Ekspresyon Düzeyi

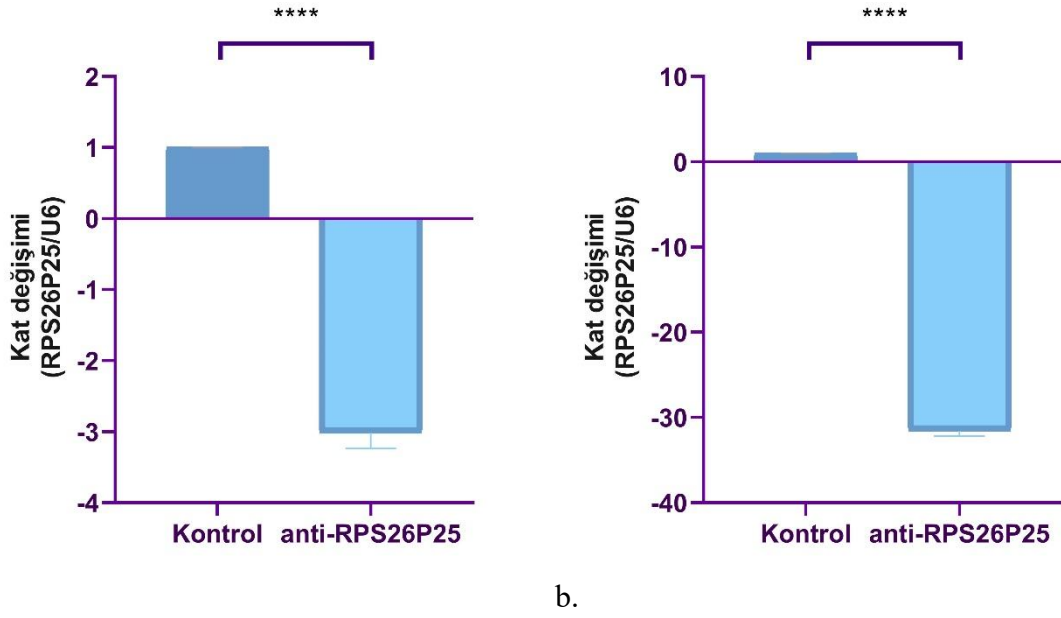
A549 hücre hattında *RPS26P25* geninin ekspresyon düzeyinin sağlıklı T2A epitel hücrelerine kıyasla 11,21 kat ($p=0,0245$) arttığı tespit edilmiştir (Şekil 8).



Şekil 8. A549 ve T2A hücre hatlarında qPCR analizi sonuçları

4.2. Hücre Modellerinde *RPS26P25* Pseudogeninin Susturulması ve Validasyonu

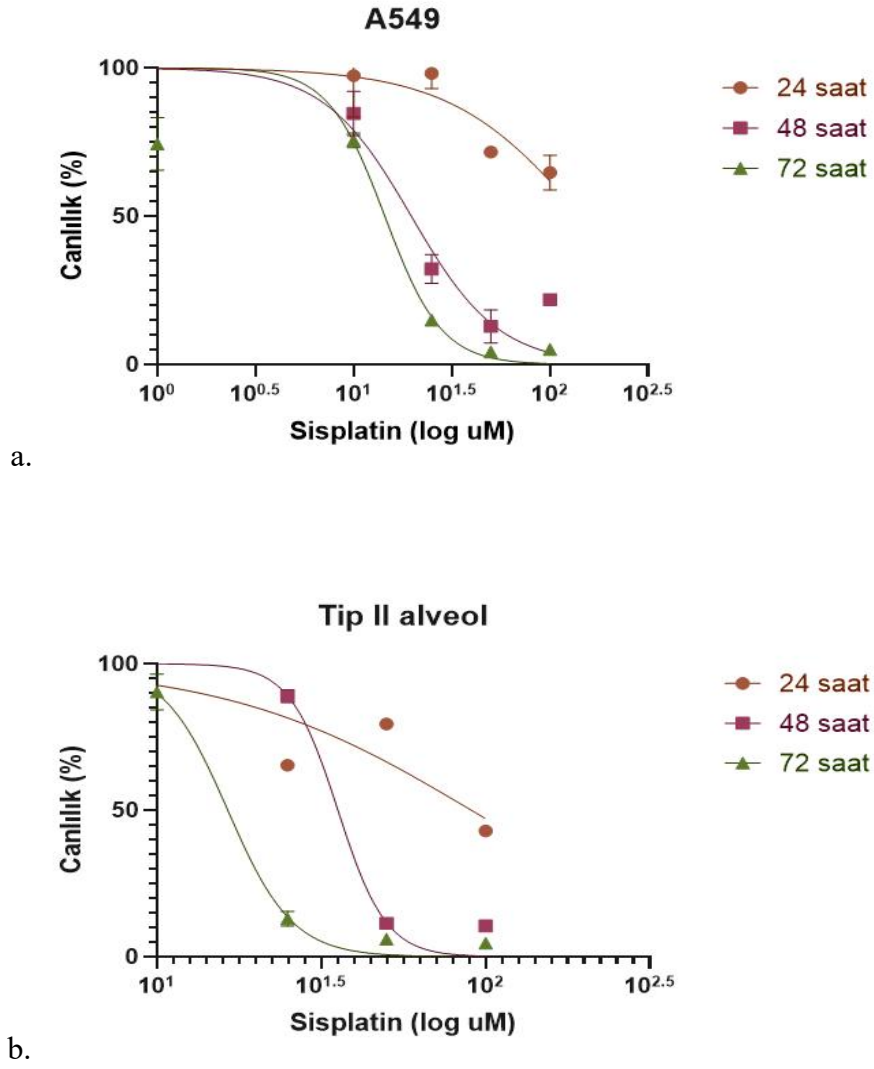
Hedef gen olan *RPS26P25* geninin biyolojik işlevlerini incelemek amacıyla, bu pseudogene özgü siRNA dizileri aracılığıyla gen susturma uygulaması gerçekleştirilmiştir. A549 hücrelerinde *RPS26P25*'i hedefleyen siRNA uygulanması sonucunda, uygulama yapılmayan kontrol grubuna kıyasla hedef genin ifadesinde 3,02 kat azalma tespit edilmiştir ($p<0,0001$; Şekil 9a). T2A hücrelerinde *RPS26P25*'i hedefleyen siRNA uygulanması sonucunda, uygulama yapılmayan kontrol grubuna kıyasla hedef genin ifadesinde 31,56 kat azalma tespit edilmiştir ($p<0,0001$; Şekil 9b).



Şekil 9. a.A549 ve b. T2A hücrelerinde anti-*RPS26P25* uygulamasına bağlı susturma validasyonu

4.3. Sítotoksisite Analizleri

RPS26P25 geninin kemoterapi yanıtı üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla sispilatin ile sítotoksisite analizleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan doz analizleri sonucunda, A549 hücre hattında sispilatinin IC_{50} değeri 48. saat için 19,69 μM olarak belirlenmiştir ($p < 0,05$; $R^2 = 0,908$; Şekil 10a). Aynı koşullarda yapılan analizde, sağlıklı T2A hücrelerinde IC_{50} değeri 35,57 μM olarak hesaplanmıştır ($p < 0,05$; $R^2 = 0,917$; Şekil 10b).



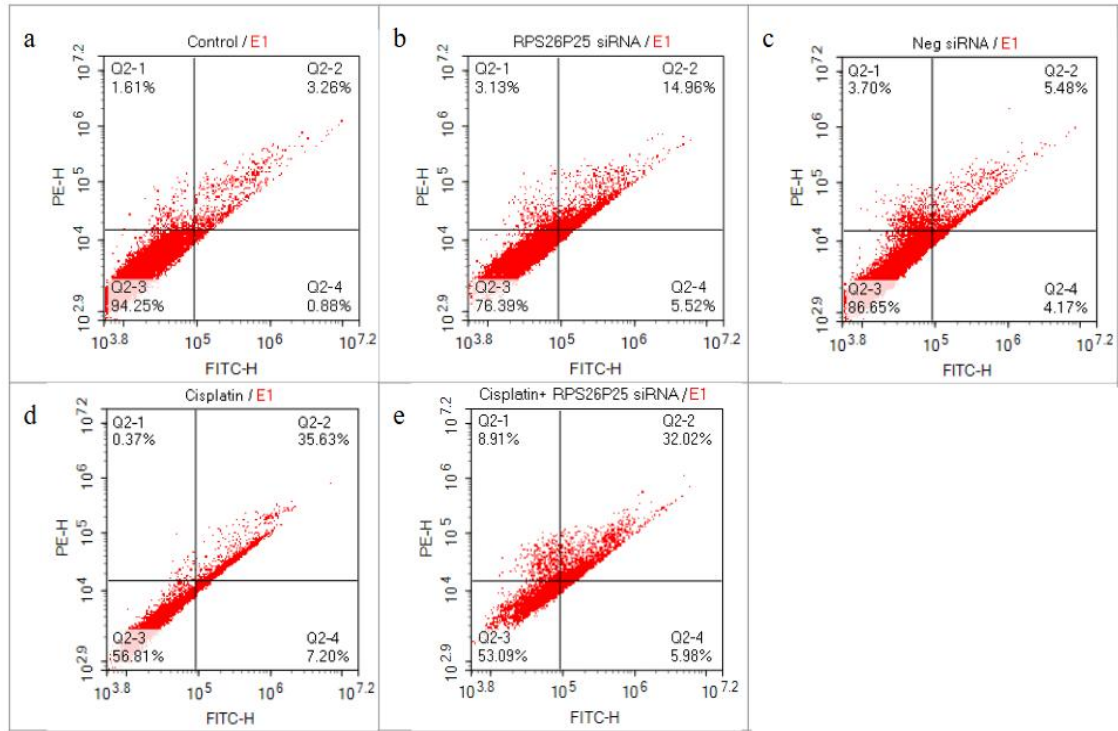
Şekil 10. a. A549 b. Tip-II alveol hücrelerinde sisplatinin sitotoksosite grafikleri

4.4. Apoptoz Analizleri Sonuçları

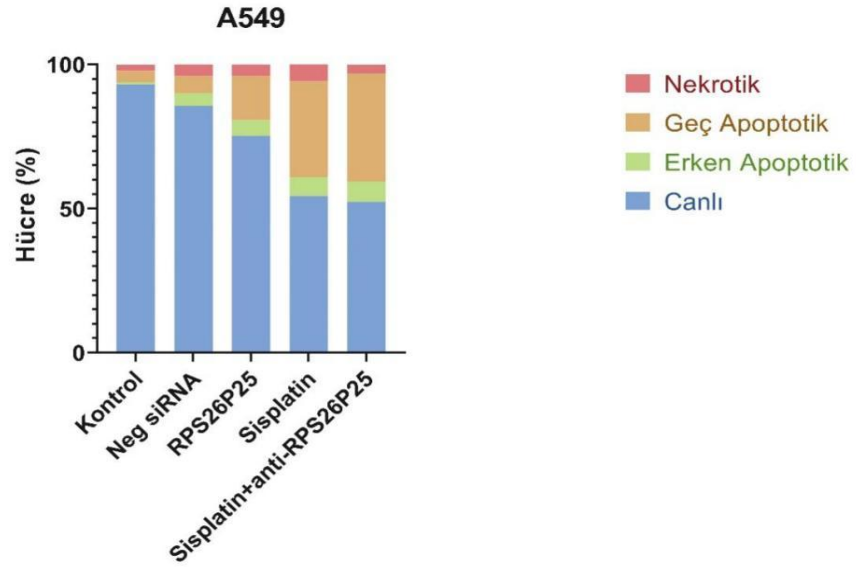
RPS26P25 pseudogeninin susturulmasının A549 hücreleri üzerindeki apoptotik etkisi araştırılmıştır. Bu uygulamanın, akciğer kanserinde kullanılan kemoterapötiklerden biri olan sisplatinin etkisiyle karşılaştırılması amacıyla, sisplatin uygulama grupları oluşturulmuştur. Annexin V analizine göre kontrol, Neg-siRNA, *RPS26P25*+siRNA, sisplatin, sisplatin+*RPS26P25* siRNA hücrelerinde canlılık oranı sırasıyla, %93,06, %85,63, %75,23, %54,36 ve %52,40' tır. Erken apoptoz oranları sırasıyla %0,77, %4,43, %5,44, %6,60 ve %6,90' dır. Geç apoptoz oranları sırasıyla %3,96, %5,98, %15,35, %33,23 ve %37,57' dir.

Toplam apoptotik hücre oranları sırasıyla, %4,73, %10,41, %20,79, %39,83, %44,47' dir. Nekroz oranları sırasıyla, %2,21, %3,96, %3,98, %5,82 ve %3,12' dir (Şekil 11 ve Şekil 12).

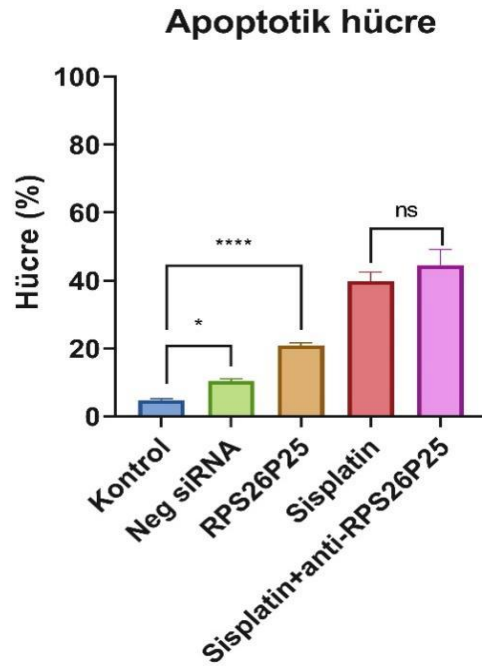
A549 hücrelerinde yapılan apoptoz analizlerinde, *RPS26P25* pseudogeninin susturulması sonucunda apoptotik hücre yüzdesi kontrol grubuna kıyasla %16,07 oranında artış göstermiştir ($p < 0,0001$). Sisplatin ile birlikte *RPS26P25* siRNA uygulanması ise, yalnızca sisplatin uygulanan hücelere kıyasla apoptotik hücre oranını %4,65 oranında artırmıştır; ancak bu artış anlamlı bulunmamıştır ($p = 0,1016$) (Tablo 4 ve Tablo 5) (Şekil 13).



Şekil 11. A549 hücrelerinde *RPS26P25* ' in susturulmasının hücre canlılığı ve apoptoz üzerindeki etkisi a. Kontrol b. *RPS26P25* siRNA c. Negatif siRNA d. Sisplatin e. Sisplatin +*RPS26P25* siRNA



Şekil 12. A549 hücrelerinde *RPS26P25*'in susturulmasının hücre canlılığı ve apoptoz üzerindeki etkisinin özet görünümü



Şekil 13. A549 hücrelerinde toplam apoptotik hücre oranları

Tablo 4. A549 hücrelerinde toplam apoptotik hücre oranı

Deney Grupları	Toplam Apoptotik Hücre Oranı (%)	Std sapma (n=3)
Kontrol	4,72	0,37
Neg-siRNA	10,40	0,55
<i>RPS26P25</i> + siRNA	20,79	0,71
Sisplatin	39,82	2,28
Sisplatin+ <i>RPS26P25</i> siRNA	44,47	4,02

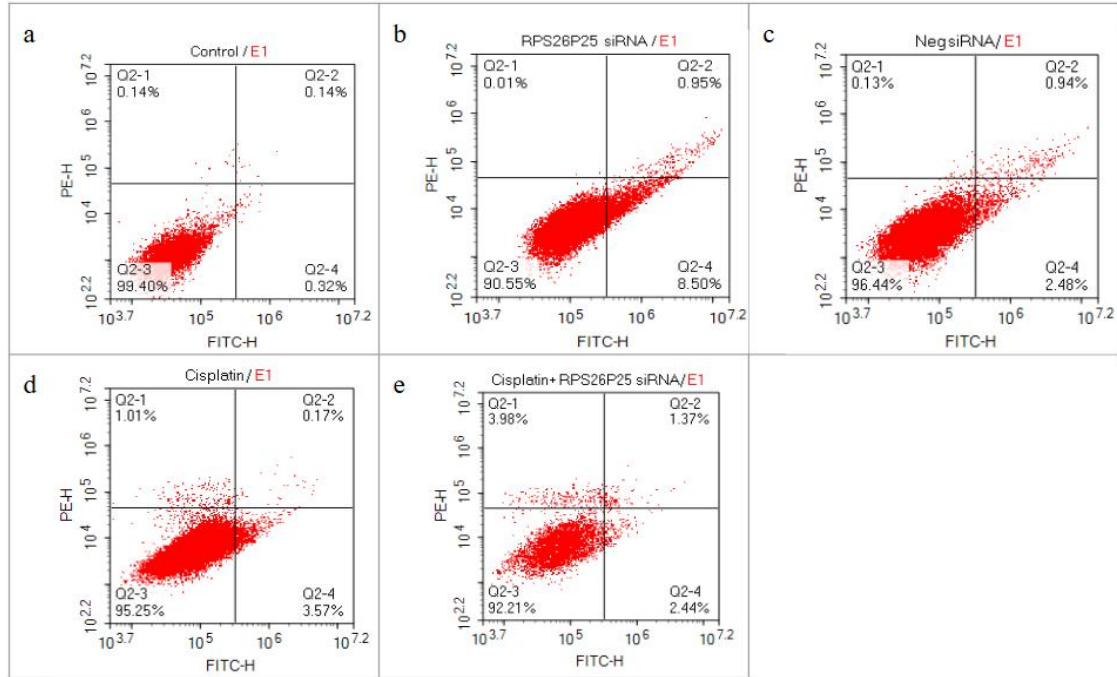
Tablo 5. A549 hücrelerinde *RPS26P25* susturulmasının apoptoz üzerindeki etkisi ve Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Tukey'in Çoklu Karşılaştırmalar Testi	Anlamlılık Derecesi	Düzeltilmiş p Değeri
Kontrol vs. Neg siRNA	*	0,0338
Kontrol vs. <i>RPS26P25</i>	****	<0,0001
Kontrol vs. Sisplatin	****	<0,0001
Kontrol vs. Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	****	<0,0001
Neg siRNA vs. <i>RPS26P25</i>	***	0,0002
Neg siRNA vs. Sisplatin	****	<0,0001
Neg siRNA vs. Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	****	<0,0001
<i>RPS26P25</i> vs. Sisplatin	****	<0,0001
<i>RPS26P25</i> vs. Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	****	<0,0001
Sisplatin vs. Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,1016

(ns= Anlamlılık yok)

RPS26P25 susturulmasının T2A hücreleri üzerindeki apoptotik etkisi araştırılmıştır. Bu uygulamanın, akciğer kanserinde kullanılan kemoterapötiklerden biri olan sisplatinin etkisiyle karşılaştırılması amacıyla, sisplatin uygulama grupları oluşturulmuştur. Annexin V analizine göre kontrol, Neg-siRNA, *RPS26P25*+siRNA, sisplatin ve sisplatin+*RPS26P25* siRNA hücrelerinde canlılık oranları sırasıyla %99,00, %97,35, %92,42, %89,44 ve %93,55'tir. Erken apoptoz oranları sırasıyla %0,35, %1,60, %6,12, %7,94 ve %2,57'dir. Geç apoptoz oranları sırasıyla %0,28, %0,71, %1,19, %1,26 ve %1,31'dir. Toplam apoptotik hücre oranları sırasıyla %0,63, %2,31, %7,31, %9,20 ve %3,88'dir. Nekroz oranları sırasıyla %0,38, %0,34, %0,28, %1,37 ve %2,57'dir (Şekil 14 ve Şekil 15).

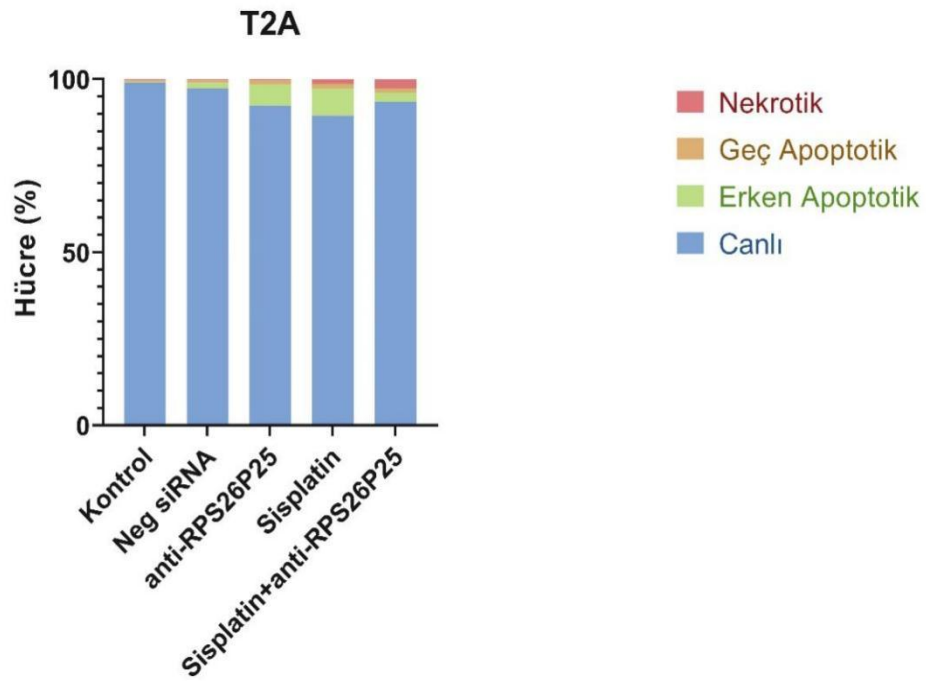
T2A hücrelerinde *RPS26P25* uygulaması kontrol grubuna göre apoptotik hücre oranını %6,69 artırmış ve bu artış anlamlı bulunmuştur ($p = 0,0101$). Negatif kontrol siRNA (Neg-siRNA) uygulaması ise apoptotik hücre oranında anlamlı bir değişiklik yaratmamıştır ($p = 0,8762$). Sisplatin tedavisi apoptotik hücre oranını anlamlı şekilde artırırken ($p = 0,0009$), sisplatin ile birlikte *RPS26P25* uygulaması, sisplatin tek başına uygulanan gruba göre %5,32 azalma göstermesine rağmen bu değişim istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p = 0,052$) (Tablo 6 ve Tablo 7) (Şekil 16).



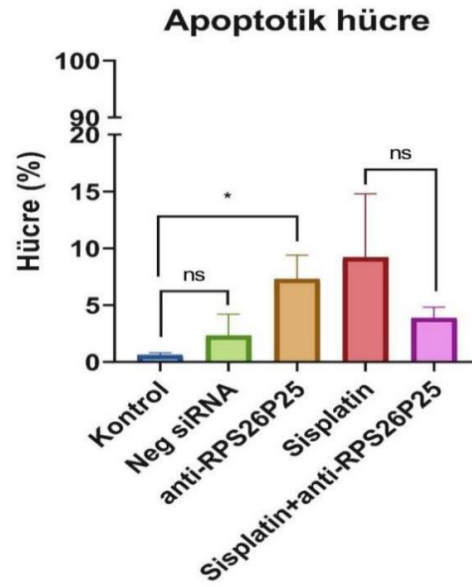
Şekil 14. T2A hücrelerinde *RPS26P25*' in susturulmasının hücre canlılığı ve apoptoz üzerindeki etkisi a. Kontrol b. *RPS26P25*+siRNA c. Negatif-siRNA d. Sisplatin e. Sisplatin+*RPS26P25* siRNA

Tablo 6 . T2A hücrelerinde toplam apoptotik hücre oranı

Deney Grupları	Toplam Apoptotik Hücre Oranı (%)	Std sapma (n=3)
Kontrol	0,62	0,17
Neg-siRNA	2,31	1,69
<i>RPS26P25</i> +siRNA	7,31	1,87
Sisplatin	9,20	4,99
Sisplatin+ <i>RPS26P25</i> siRNA	3,88	0,84



Şekil 15. T2A hücrelerinde *RPS26P25*' in susturulmasının hücre canlılığı ve apoptoz üzerindeki etkisinin özet görünümü



Şekil 16.. T2A hücrelerinde toplam apoptotik hücre oranları

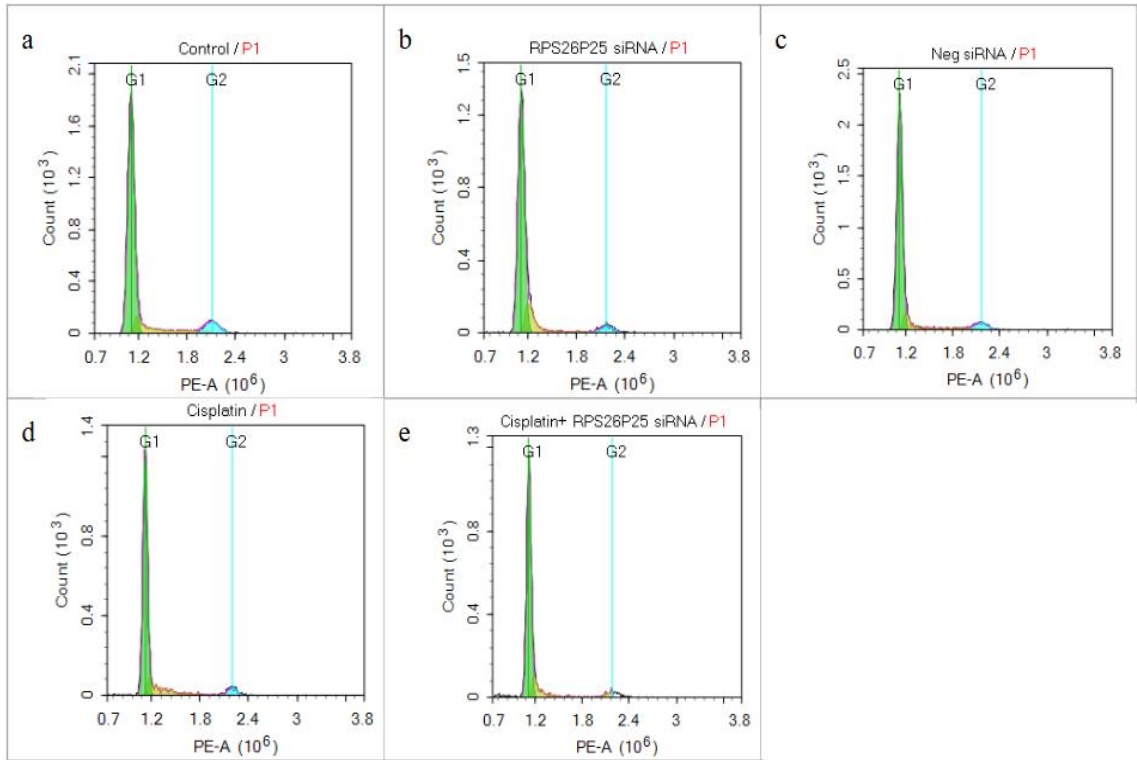
Tablo 7. T2A hücrelerinde gruplar arası toplam apoptotik hücre oranlarının Tukey'in çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmesi

Tukey' in Çoklu Karşılaştırmalar Testi	Anlamlılık Derecesi	Düzeltilmiş p Değeri
Kontrol vs. Neg siRNA	ns	0,8762
Kontrol vs. <i>RPS26P25</i>	*	0,0101
Kontrol vs. Sisplatin	***	0,0009
Kontrol vs. Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,3889
Neg siRNA vs. <i>RPS26P25</i>	ns	0,0743
Neg siRNA vs. Sisplatin	**	0,0079
Neg siRNA vs. Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,9016
<i>RPS26P25</i> vs. Sisplatin	ns	0,8262
<i>RPS26P25</i> vs. Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,3406
Sisplatin vs. Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,0520

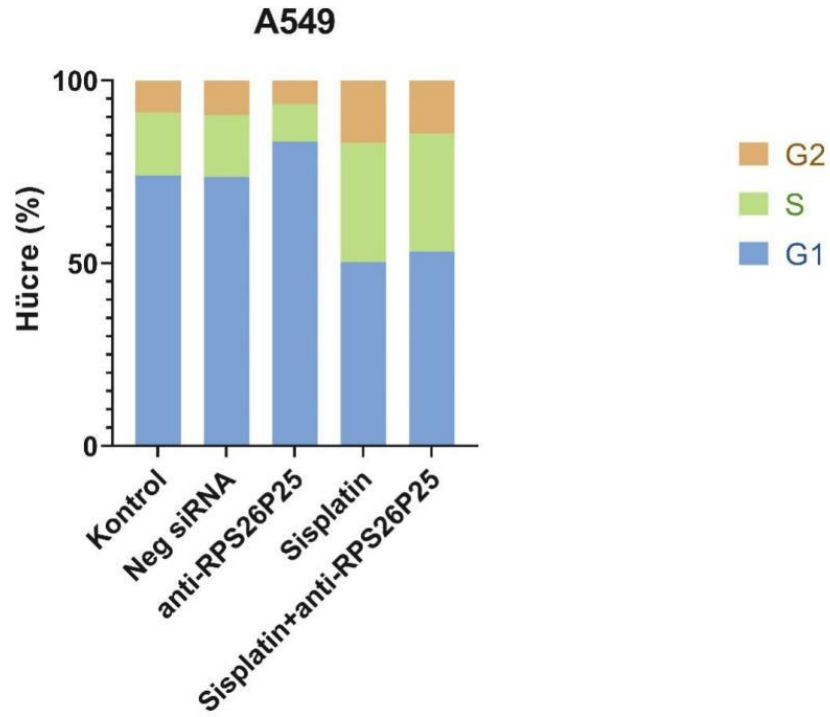
(ns= Anlamlılık yok)

4.5. Hücre Döngüsü Analizleri Sonuçları

RPS26P25' in susturulmasının A549 akciğer kanseri hücreleri üzerindeki hücre döngüsü üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu uygulamanın, akciğer kanserinde kullanılan kemoterapötiklerden biri olan sisplatinin etkisiyle karşılaştırılması amacıyla, sisplatin uygulama grupları oluşturulmuştur. Hücre döngüsü analizine göre kontrol, Neg-siRNA, *RPS26P25*+siRNA, Sisplatin, Sisplatin+*RPS26P25* siRNA hücrelerinde G1, S ve G2 fazlarındaki hücre yüzdeleri belirlenmiştir. Hücre yüzdeleri sırasıyla G1 fazında %74,07, %73,66, %83,29 %50,29, %53,28'dir. S fazında, %17,07, %17,01, %10,38, %32,61, %32,19'dur. G2 fazında, %8,86, %9,33, %6,34, %17,10, %14,53'dür (Şekil 17 ve Şekil 18).



Şekil 17. A549 hücrelerinde *RPS26P25*' in susturulmasının hücre döngüsü üzerindeki etkileri
a. Kontrol b. *RPS26P25*+siRNA c. Negatif -siRNA d. Sisplatin e. Sisplatin+ *RPS26P25* siRNA



Şekil 18. A549 hücrelerinde hücre döngüsü fazları değişimi

A549 hücrelerinde yapılan hücre döngüsü analizine göre, *RPS26P25*' in susturulmasının G1 fazı üzerine etkisi incelendiğinde, kontrol grubuna kıyasla anti-*RPS26P25* uygulanan grupta G1 fazındaki hücre birikimi %9,22' lik anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p = 0,0137$). Kontrole göre sadece sisplatin uygulanan grupta %23,28 ($p < 0.0001$), sisplatin ile birlikte *RPS26P25* susturulmasının yapıldığı grupta %20,79' luk ($p < 0.0001$), G1 fazında anlamlı azalış tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra, sisplatin uygulanan grup ve sisplatin+*RPS26P25* susturulan grup arasında da G1 fazındaki %2,99' luk artış anlamlı bulunmamıştır ($p = 0,9554$) (Tablo 8).

S fazı değerlendirmelerinde; kontrol grubuna göre *RPS26P25* susturma grubunda %6,69 azalma belirlenmiş olmakla birlikte bu fark anlamlı değildir ($p = 0,1789$). Kontrol grubuna göre sisplatin ($p < 0.0001$) ve sisplatin+*RPS26P25* susturma gruplarında ($p < 0.0001$) S fazındaki hücre birikimi yaklaşık %15 artmıştır.

G2 fazı sonuçlarına göre, yalnızca sisplatin grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark kaydedilmiştir ($p = 0,0384$). Ayrıca, anti-*RPS26P25* uygulaması yapılan hücrelerin hem sisplatin grubuyla ($p = 0,0020$), hem de sisplatin+*RPS26P25* susturma grubuyla ($p = 0,0403$)

karşılaştırılmasında anlamlı düzeyde farklılık belirlenmiştir. Diğer karşılaştırmalar ise anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır.

Tablo 8. A549 hücrelerinde *RPS26P25* uygulamasının hücre döngüsüne etkisi ve Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Tukey'in Çoklu Karşılaştırmalar Testi	Anlamlılık Derecesi	Düzeltilmiş p Değeri
G1:Kontrol vs. G1:Neg siRNA	ns	>0,9999
G1:Kontrol vs. G1:anti- <i>RPS26P25</i>	*	0,0137
G1:Kontrol vs. G1:Sisplatin	****	<0,0001
G1:Kontrol vs. G1:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	****	<0,0001
G1:Neg siRNA vs. G1:anti- <i>RPS26P25</i>	**	0,0028
G1:Neg siRNA vs. G1:Sisplatin	****	<0,0001
G1:Neg siRNA vs. G1:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	****	<0,0001
G1:anti- <i>RPS26P25</i> vs. G1:Sisplatin	****	<0,0001
G1:anti- <i>RPS26P25</i> vs. G1:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	****	<0,0001
G1:Sisplatin vs. G1:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,9554
S:Kontrol vs. S:Neg siRNA	ns	>0,9999
S:Kontrol vs. S:anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,1789

(ns= Anlamlılık yok)

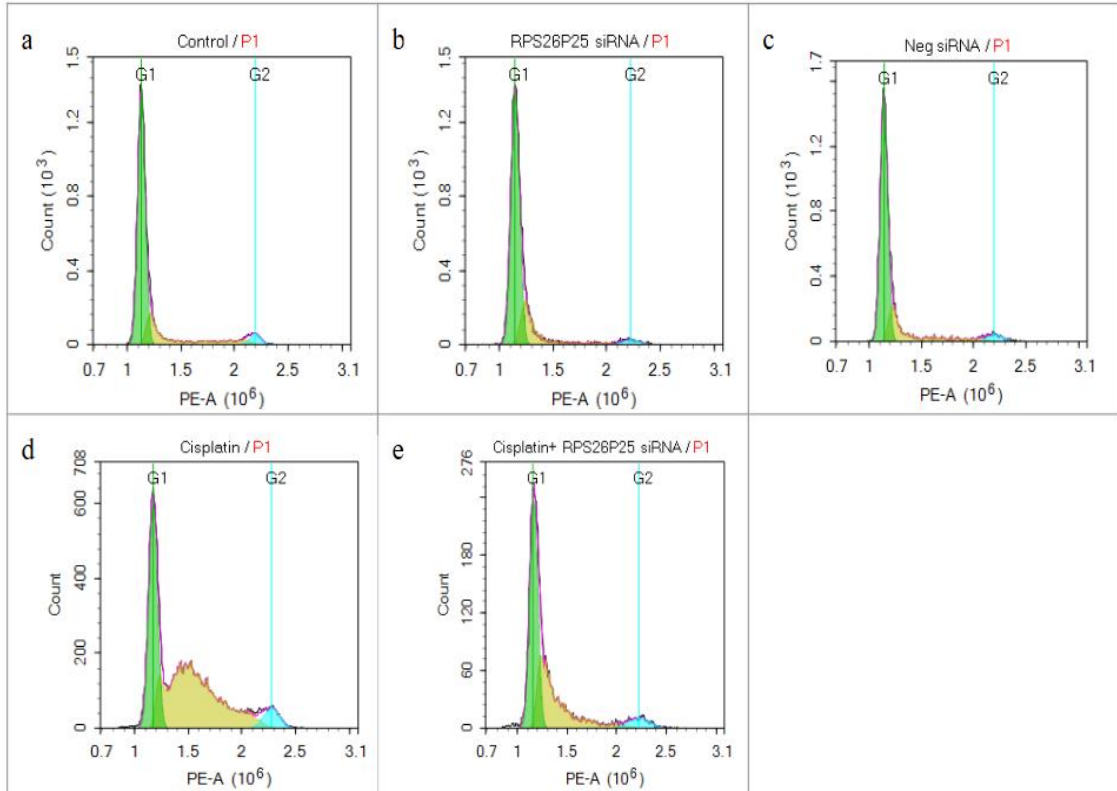
Tablo 8. A549 hücrelerinde *RPS26P25* uygulamasının hücre döngüsüne etkisi ve Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları (devam)

S:Kontrol vs. S:Sisplatin	****	<0,0001
S:Kontrol vs. S:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	****	<0,0001
S:Neg siRNA vs. S:anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,1881
S:Neg siRNA vs. S:Sisplatin	****	<0,0001
S:Neg siRNA vs. S:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	****	<0,0001
S:anti- <i>RPS26P25</i> vs. S:Sisplatin	****	<0,0001
S:anti- <i>RPS26P25</i> vs. S:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	****	<0,0001
S:Sisplatin vs. S:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	>0,9999
G2:Kontrol vs. G2:Neg siRNA	ns	>0,9999
G2:Kontrol vs. G2:anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,9965
G2:Kontrol vs. G2:Sisplatin	*	0,0384
G2:Kontrol vs. G2:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,3998
G2:Neg siRNA vs. G2:anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,9832
G2:Neg siRNA vs. G2:Sisplatin	ns	0,0631
G2:Neg siRNA vs. G2:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,5336
G2:anti- <i>RPS26P25</i> vs. G2:Sisplatin	**	0,0020
G2:anti- <i>RPS26P25</i> vs. G2:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	*	0,0403
G2:Sisplatin vs. G2:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,9958

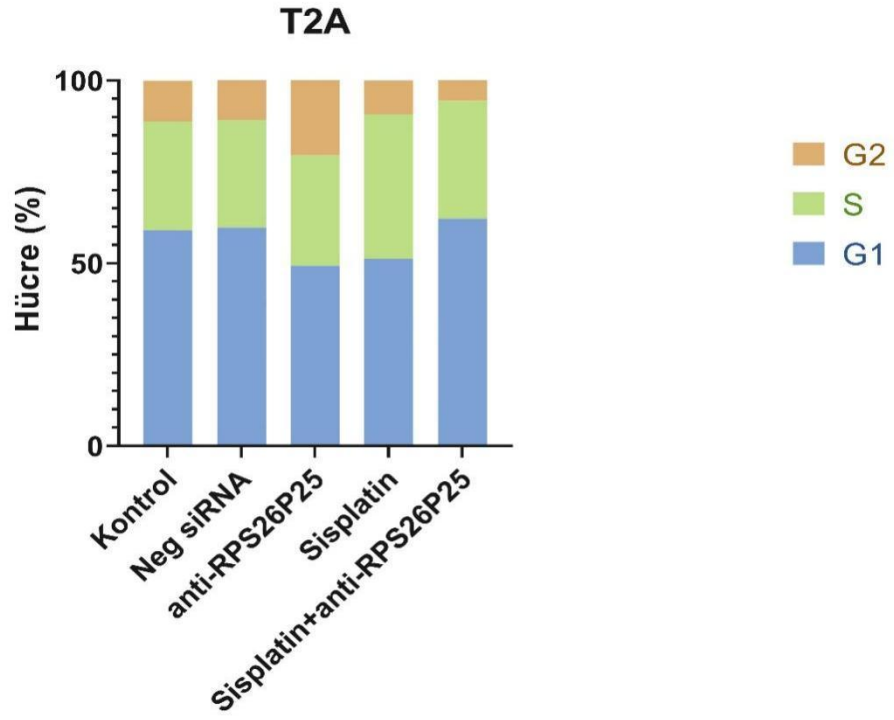
(ns= Anlamlılık yok)

RPS26P25' in susturulmasının T2A hücreleri üzerindeki hücre döngüsü üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu uygulamanın, akciğer kanserinde kullanılan kemoterapötiklerden biri olan sisplatinin etkisiyle karşılaştırılması amacıyla, sisplatin uygulama grupları oluşturulmuştur.

Hücre döngüsü analizine göre kontrol, Neg-siRNA, *RPS26P25*+siRNA, Sisplatin, Sisplatin+*RPS26P25* siRNA hücrelerinde G1, S ve G2 fazlarındaki hücre yüzdeleri belirlenmiştir. Hücre yüzdeleri sırasıyla G1 fazında %59,03, %59,74, %49,32, %51,19 ve %62,24'tür. S fazında %29,80, %29,50, %30,23, %39,60 ve %32,21'dir. G2 fazında %11,16, %10,76, %20,46, %9,21 ve %5,56'dır (Şekil 19 ve Şekil 20).



Şekil 19. T2A hücrelerinde *RPS26P25*' in susturulmasının hücre döngüsü üzerindeki etkileri
a. Kontrol b. *RPS26P25*+siRNA c. Negatif- siRNA d. Sisplatin e. Sisplatin+*RPS26P25* siRNA



Şekil 20. T2A hücrelerinde hücre döngüsü fazları değişimi

T2A hücre hattında yapılan hücre döngüsü analizlerinde, G1, S ve G2 fazlarına yönelik uygulanan farklı tedavi grupları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ($p > 0.05$) (Tablo 9). Elde edilen sonuçlar, *RPS26P25* geninin susturulmasının tek başına ya da sisplatin ile birlikte uygulanmasının hücre döngüsünün bu fazları üzerinde belirgin bir etkisi olmadığını göstermektedir.

Tablo 9. T2A hücrelerinde *RPS26P25* uygulamasının hücre döngüsüne etkisi ve Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları¹

Tukey'in Çoklu Karşılaştırmalar Testi	Anlamlılık Derecesi	Düzeltilmiş p Değeri
G1:Kontrol vs. G1:Neg siRNA	ns	>0,9999
G1:Kontrol vs. G1:anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,9952
G1:Kontrol vs. G1:Sisplatin	ns	0,9685
G1:Kontrol vs. G1:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	>0,9999
G1:Neg siRNA vs. G1:anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,9944
G1:Neg siRNA vs. G1:Sisplatin	ns	0,9647
G1:Neg siRNA vs. G1:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	>0,9999
G1:anti- <i>RPS26P25</i> vs. G1:Sisplatin	ns	>0,9999
G1:anti- <i>RPS26P25</i> vs. G1:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,9907
G1:Sisplatin vs. G1:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,9576
S:Kontrol vs. S:Neg siRNA	ns	>0,9999
S:Kontrol vs. S:anti- <i>RPS26P25</i>	ns	>0,9999
S:Kontrol vs. S:Sisplatin	ns	0,9397
S:Kontrol vs. S:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	>0,9999
S:Neg siRNA vs. S:anti- <i>RPS26P25</i>	ns	>0,9999
S:Neg siRNA vs. S:Sisplatin	ns	0,9253
S:Neg siRNA vs. S:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	>0,9999

(ns= Anlamlılık yok)

Tablo 9. T2A hücrelerinde *RPS26P25* uygulamasının hücre döngüsüne etkisi ve Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları (devam)

S:anti- <i>RPS26P25</i> vs. S:Sisplatin	ns	0,9562
S:anti- <i>RPS26P25</i> vs. S:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	>0,9999
S:Sisplatin vs. S:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,9980
G2:Kontrol vs. G2:Neg siRNA	ns	>0,9999
G2:Kontrol vs. G2:anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,9589
G2:Kontrol vs. G2:Sisplatin	ns	>0,9999
G2:Kontrol vs. G2:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	>0,9999
G2:Neg siRNA vs. G2:anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,9440
G2:Neg siRNA vs. G2:Sisplatin	ns	>0,9999
G2:Neg siRNA vs. G2:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	>0,9999
G2:anti- <i>RPS26P25</i> vs. G2:Sisplatin	ns	0,8539
G2:anti- <i>RPS26P25</i> vs. G2:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	0,8253
G2:Sisplatin vs. G2:Sisplatin+anti- <i>RPS26P25</i>	ns	>0,9999

(ns= Anlamlılık yok)

5. TARTIŞMA

Literatürde *RPS26P25* pseudogenine özgü doğrudan bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak, ribozomal protein genleri ve özellikle pseudogenler, son yıllarda kanser biyolojisinde kritik düzenleyici elemanlar olarak öne çıkmaktadır. Örneğin, ribozomal proteinlerin yalnızca ribozom biyosentezi ile sınırlı kalmadığı; aynı zamanda *p53* ve *NF-κB* (Nükleer Faktör Kappa B) gibi tümörle ilişkili sinyal yollarını da etkilediği gösterilmiştir (Zhao ve diğerleri., 2024; Costa ve diğerleri., 2024). *RPL5* ve *RPL11* gibi ribozomal proteinlerin *MDM2-p53* (Hücre döngüsü ve apoptoz kontrolünde görevli protein kompleksi) aksı üzerinden *p53* stabilizasyonunu artırarak tümör baskılayıcı bir etki gösterdiği, son dönemde yapılan çalışmalarla desteklenmektedir (Zhao ve diğerleri., 2024).

Ribozom biyogenezi hedefleyen yeni nesil moleküller de antikanser terapilerde umut verici bulunmuştur. Özellikle *CX-5461*, RNA polimeraz I'i inhibe ederek nükleolar stres yaratmakta ve bu yolla hücre döngüsünü durdurarak apoptozu indüklemektedir (Li ve diğerleri., 2025). Bu ajan, hem preklinik hem de bazı klinik modellerde tümör gelişimini anlamlı ölçüde baskılamıştır (Miao ve diğerleri., 2025).

Pseudogenler özelinde ise, bazı yeni çalışmalar bu genlerin ceRNA mekanizması ile miRNA' ları süngerleyerek hedef genlerin ekspresyonunu düzenlediğini ortaya koymuştur. Örneğin, *HSPB1P1* pseudogeninin renal hücreli karsinomda *miR-296-5p/HMGAI* aksı üzerinden hücre proliferasyonu ve metastazı artırdığı gösterilmiştir (Zhou ve diğerleri., 2025).

Bu bağlamda, çalışmamızda *RPS26P25*' in siRNA ile baskılanması sonrasında hücre canlılığında azalma, apoptoz oranında ise artış belirlenmiştir. Bu durum, bu pseudogenin hücre yaşam döngüsünde regülatör rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, sisplatin ile kombine uygulamada apoptoz oranındaki artış, *RPS26P25*' in kemoterapi duyarlılığı üzerinde etkili olabileceğini ve A549 hücrelerinin sisplatine karşı daha duyarlı olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, *RPS26P25*' in susturulmasının sisplatin duyarlılığı üzerinde sınırlı düzeyde bir etki oluşturduğunu, ancak tek başına hücre canlılığı ve apoptoz üzerinde belirgin bir düzenleyici role sahip olabileceğini göstermektedir. Bu veriler, *RPS26P25*' in akciğer kanseri biyolojisinde terapötik hedef veya biyobelirteç olabileceğini göstermektedir.

Bu durum, genin susturulmasının normal hücreler üzerinde de belirli düzeyde etki oluşturduğunu, ancak bu etkinin tümör hücrelerine kıyasla daha sınırlı olduğunu göstermektedir.

Solunum hastalıklarının tedavisinde siRNA teknolojisi, genetik düzeyde hedefe yönelik tedavi imkânı sunduğu için dikkat çekmektedir. siRNA'lar, belirli bir mRNA'yı hedef alarak gen ifadesini susturmakta ve bu sayede hastalığın ilerlemesine neden olan proteinlerin üretimini engellemektedir. Yulin Fan'a (2022) göre, inhale siRNA formülasyonları doğrudan akciğerlere uygulanabilirlikleri sayesinde lokal etkiyi artırırken sistemik toksisiteyi azaltma potansiyeline sahiptir.

Bu özellikleri ile siRNA bazlı tedaviler, astım, KOAH (Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı), akciğer enfeksiyonları ve hatta akciğer kanseri gibi birçok solunum yolu hastalığı için umut vaat etmektedir.

Bu sonuçlar, güncel literatürle de desteklenmektedir. 2020 sonrası yapılan çalışmalar, ribozomal proteinlerin ve pseudogenlerin kanser biyolojisinde düzenleyici rollere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Örneğin Lindström ve diğerleri (2025), *RPL5* ve *RPL11* gibi ribozomal proteinlerin *p53* stabilizasyonu yoluyla tümör baskılayıcı etki gösterdiğini bildirmiştir. *CX-5461* adlı RNA Polimeraz I inhibitörünü kullanan Li ve diğerleri (2025), nükleolar stres oluşturarak apoptozu indüklemiş ve ribozom biyogenezi üzerinden antikanser etki göstermiştir. Gelfo ve diğerleri (2024) ise dokuya özgü ribozom yapılarının, kanser türüne göre farklı işlevler üstlendiğini ortaya koymuştur. Miao ve diğerleri (2025), ribozom hedefli terapilerin yeni nesil tedavi stratejileri arasında yer aldığını vurgulamaktadır. Taritsa ve diğerleri (2025), bazı pseudogenlerin ceRNA mekanizması aracılığıyla miRNA'ları süngerleyerek *p53* regülasyonuna katkı sağladığını ifade etmiştir. Wu ve diğerleri (2022) ise, bazı pseudogenlerin malign transformasyonun erken evrelerinde ceRNA olarak görev alabileceğini göstermiştir. Akciğer adenokarsinomu hastalarına ait büyük veri setleriyle çalışan Xin ve diğerleri (2022), *LINC00460* gibi ceRNA elemanlarının tanı ve prognoz açısından değer taşıdığını öne sürmüştür. *EGFR-TKI* dirençli küçük hücre dışı akciğer kanseri hücrelerinde ceRNA ağlarının etkisini inceleyen Frankish ve diğerleri (2021), ribozom biyogenezi ve RNA işleme yollarının da bu süreçte aktive olduğunu göstermiştir. Ayrıca Zhang ve diğerleri (2023), *PTENP1* pseudogeninin *miR-21*' i süngerleyerek *PTEN* ekspresyonunu artırdığını ve apoptozu teşvik ettiğini bildirmiştir.

Pseudogenler, özellikle ceRNA olarak görev yaparak miRNA' ları bağlayabilir ve böylece fonksiyonel genlerin ekspresyonunu etkileyebilir. *RPS26P25*' in transkripte uğraması, bu tip bir mekanizmaya dahil olabileceğini düşündürmektedir (Tay ve diğerleri., 2014). Ayrıca, potansiyel transkripsiyon faktörü bağlanma bölgeleri, bu genin regülasyonda aktif olabileceğine işaret etmektedir.

Bazı çalışmalarda ribosomal protein pseudogenlerinin tümör baskılayıcı veya onkogen olarak görev yapabileceği öne sürülmektedir (Poliseno ve diğerleri., 2010). *RPS26P25*, genomik olarak sessiz kalmayan ve belirli koşullarda transkripsiyona uğrayabilen bir pseudogendir. Ribosomal protein ailesine ait olması ve bu genin biyobelirteç potansiyelini ortaya koymaktadır. Ancak, kesin fonksiyonlarını ortaya koymak için daha fazla fonksiyonel ve klinik araştırma gerekmektedir.

RPS26P25 hakkında mevcut bilimsel yayın sayısı oldukça sınırlıdır. Literatürde yer alan veriler genetik veritabanlarından elde edilen anotasyonlara dayanmaktadır. Bu pseudogenin fonksiyonel etkileri ve hastalık süreçlerindeki rolü hakkında daha fazla deneysel çalışmaya ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında daha önce çalışılmamış olan *RPS26P25* adlı pseudogenin akciğer kanseri hücreleri üzerindeki biyolojik etkileri araştırılmıştır. Yapılan *in vitro* deneyler sonucunda, *RPS26P25* pseudogeninin A549 hücre hattında hücre canlılığını anlamlı düzeyde azalttığı ve apoptozu tetiklediği belirlenmiştir.

Ayrıca, *RPS26P25*' in kemoterapötik ajan olan sisplatin ile etkileşimi de araştırılmış; *RPS26P25*' in susturulmasının, sisplatinin sitotoksik etkisini artırdığı gözlemlenmiştir. Özellikle IC_{50} değerleride elde edilen anlamlı değişiklikler, *RPS26P25*' in kemoterapi yanıtını etkileyebileceğini düşündürmektedir. Bu etkileşim, *RPS26P25*' in tedaviye duyarlılığı artırma potansiyeli bakımından dikkat çekici olmaktadır.

RPS26P25' in sağlıklı akciğer hücreleri olan T2A hücre hattında belirlenen etkilerinin A549' a göre daha düşük seviyede olması ise bu genin hedeflenmesinin kanser hücrelerine özgü ve seçici bir tedavi stratejisi sunabileceğini göstermektedir. Bu sonuçlara göre, *RPS26P25*' in hem terapötik hedef olarak değerlendirebilecek bir pseudogen hem de tanısal amaçla kullanılabilecek bir biyobelirteç adayı olarak öne çıkmaktadır.

Elde edilen bulgular, *RPS26P25* pseudogeninin akciğer kanseri hücrelerinde apoptoz ve kemoterapiye duyarlılık gibi temel hücreler süreçleri etkilediğini ortaya koysa da, bu etkilerin altında yatan moleküler yollar henüz tam olarak anlaşılmamış ve araştırılmamıştır. Bu durum, *RPS26P25*' in hücre içi sinyal yolları üzerindeki düzenleyici etkilerinin ve potansiyel etkileşim ağlarının daha detaylı araştırılması ve incelenmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır. Özellikle *RPS26P25*' in apoptotik proteinler, hücre döngüsü düzenleyicileri veya DNA hasarı yanıtı ile olan ilişkileri gelecekte yapılacak çalışmaların temel yapı taşlarını oluşturmaktadır.

Gelecek çalışmalarda *RPS26P25*' in *in vivo* modellerdeki etkilerinin değerlendirilmesi, klinik çalışma ve örneklerle değerlendirilmesi ve tedavisel olarak araştırılması, elde edilen sonuçların translasyonel tıp açısından değerini artıracaktır.

KAYNAKLAR

Baidya Kayal, E., Ganguly, S., Sasi, A., Sharma, S., D. S., Saini, M., Rangarajan, K., Kandasamy, D., Bakhshi, S., ve Mehndiratta, A. (2023). A proposed methodology for detecting the malignant potential of pulmonary nodules in sarcoma using computed tomographic imaging and artificial intelligence-based models. *Frontiers in Oncology*, 13, 1212526. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1212526>

Balakirev, E. S., ve Ayala, F. J. (2003). Pseudogenes: are they "junk" or functional DNA?. *Annual review of genetics*, 37, 123–151. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.37.040103.103949>

Brown, J. S., Amend, S. R., Austin, R. H., Gatenby, R. A., Hammarlund, E. U., ve Pienta, K. J. (2023). Updating the Definition of Cancer. *Molecular cancer research : MCR*, 21(11), 1142–1147. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-23-0411>

Chaffer, C. L., ve Weinberg, R. A. (2011). A perspective on cancer cell metastasis. *Science (New York, N.Y.)*, 331(6024), 1559–1564. <https://doi.org/10.1126/science.1203543>

Cheetham, S.W., Faulkner, G.J. ve Dinger, M.E. Overcoming challenges and dogmas to understand the functions of pseudogenes. *Nat Rev Genet* 21, 191–201 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0196-1>

Cooper, W. A., Lam, D. C., O'Toole, S. A., ve Minna, J. D. (2013). Molecular biology of lung cancer. *Journal of thoracic disease*, 5 Suppl 5(Suppl 5), S479–S490. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2072-1439.2013.08.03>

Dan, Y., Zhao, X., Li, J., Zhong, H., Zhang, H., Wu, J., He, J., Li, L., Song, Q., ve Xu, B. (2025). Harnessing pseudogenes for lung cancer: A novel epigenetic target in diagnosis, prognosis and treatment. *Critical reviews in oncology/hematology*, 208, 104645. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2025.104645>

Dasari, S., ve Tchounwou, P. B. (2014). Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *European journal of pharmacology*, 740, 364–378. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.025>

Du, Y., ve Gao, Y. (2020). Development and validation of a novel pseudogene pair-based prognostic signature for prediction of overall survival in patients with hepatocellular carcinoma. *BMC cancer*, 20(1), 887. <https://doi.org/10.1186/s12885-020-07391-2>

Duma, N., Santana-Davila, R., ve Molina, J. R. (2019). Non-Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Screening, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clinic proceedings*, 94(8), 1623–1640. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2019.01.013>

Ensembl Genome Browser. (2024). *RPS26P25* Gene [ENSG00000240094]. <https://www.ensembl.org>

Esposito, F., De Martino, M., Petti, M. G., Forzati, F., Tornincasa, M., Federico, A., Arra, C., Pierantoni, G. M., ve Fusco, A. (2014). HMGA1 pseudogenes as candidate proto-oncogenic competitive endogenous RNAs. *Oncotarget*, 5(18), 8341–8354. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2202>

Esteller M. (2007). Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. *Nature reviews. Genetics*, 8(4), 286–298. <https://doi.org/10.1038/nrg2005>

Fan, Y., ve Yang, Z. (2022). Inhaled siRNA Formulations for Respiratory Diseases: From Basic Research to Clinical Application. *Pharmaceutics*, 14(6), 1193. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061193>

Frankish, A., Diekhans, M., ve diğerleri (2021). GENCODE 2021. *Nucleic acids research*, 49(D1), D916–D923. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1087>

Gelfo, V., Venturi, G., Zacchini, F., ve Montanaro, L. (2024). Decoding Ribosome Heterogeneity: A New Horizon in Cancer Therapy. *Biomedicines*, 12(1), 155. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12010155>

GeneCards. (2025, July 17). *RPS26P25 (Ribosomal Protein S26 Pseudogene 25)* [Database ID: GC04M113213]. Retrieved August 18, 2025, from https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?id_type=hgnc&id=35730

Hanahan D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer discovery*, 12(1), 31–46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>

Hanahan, D., ve Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5), 646-674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>

Hanna, N. H., Schneider, B. J., Temin, S., ve diğerleri (2020). Therapy for Stage IV Non-Small-Cell Lung Cancer Without Driver Alterations: ASCO and OH (CCO) Joint Guideline Update. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 38(14), 1608–1632. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.03022>

Herbst, R. S., Morgensztern, D., ve Boshoff, C. (2018). The biology and management of non-small cell lung cancer. *Nature*, 553(7689), 446–454. <https://doi.org/10.1038/nature25183>

Jaenisch, R., ve Bird, A. (2003). Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nature genetics*, 33 Suppl, 245–254. <https://doi.org/10.1038/ng1089>

Jassim, A., Rahrmann, E. P., Simons, B. D., ve Gilbertson, R. J. (2023). Cancers make their own luck: theories of cancer origins. *Nature reviews. Cancer*, 23(10), 710–724. <https://doi.org/10.1038/s41568-023-00602-5>

Ji, Z., Song, R., Regev, A., ve Struhl, K. (2015). Many lncRNAs, 5'UTRs, and pseudogenes are translated and some are likely to express functional proteins. *eLife*, 4, e08890. <https://doi.org/10.7554/eLife.08890>

Joyce, J. A., ve Pollard, J. W. (2009). Microenvironmental regulation of metastasis. *Nature reviews. Cancer*, 9(4), 239–252. <https://doi.org/10.1038/nrc2618>

Jungblut, L., Rizzo, ve diğerleri (2024). Advancements in lung cancer: a comprehensive perspective on diagnosis, staging, therapy and follow-up from the SAKK Working Group on Imaging in Diagnosis and Therapy Monitoring. *Swiss medical weekly*, 154, 3843. <https://doi.org/10.57187/s.3843>

Kelland L. (2007). The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nature reviews. Cancer*, 7(8), 573–584. <https://doi.org/10.1038/nrc2167>

Lee, J. Y., Bhandare, R. R., Boddu, S. H. S., Shaik, A. B., Saktivel, L. P., Gupta, G., Negi, P., Barakat, M., Singh, S. K., Dua, K., ve Chellappan, D. K. (2024). Molecular mechanisms underlying the regulation of tumour suppressor genes in lung cancer. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 173, 116275. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116275>

Lewandowska, A. M., Rudzki, M., Rudzki, S., Lewandowski, T., ve Laskowska, B. (2018). Environmental risk factors for cancer-review paper. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 26(1), 1-7.

Li, H. X., He, Y. M., Fei, J., Guo, M., Zeng, C., Yan, P. J., Xu, Y., Qin, G., ve Teng, F. Y. (2025). The G-quadruplex ligand CX-5461: an innovative candidate for disease treatment. *Journal of translational medicine*, 23(1), 457. <https://doi.org/10.1186/s12967-025-06473-8>

Lindeman, N. I., Cagle, P. T., ve diğerleri (2018). Updated Molecular Testing Guideline for the Selection of Lung Cancer Patients for Treatment With Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors: Guideline From the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*, 13(3), 323–358. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2017.12.001>

Lindström M. S. (2025). The Central Role of Ribosomal Proteins in p53 Regulation. *Cancers*, 17(10), 1597. <https://doi.org/10.3390/cancers17101597>

Nakamura-García, A. K., ve Espinal-Enríquez, J. (2023). Pseudogenes in Cancer: State of the Art. *Cancers*, 15(16), 4024. <https://doi.org/10.3390/cancers15164024>

National Center for Biotechnology Information. (2025). *RPS26P25 ribosomal protein S26 pseudogene 25 [Homo sapiens]*. Erişim tarihi: 18 Temmuz 2025, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/728937>

Neganova, M. E., Klochkov, S. G., Aleksandrova, Y. R., ve Aliev, G. (2022). Histone modifications in epigenetic regulation of cancer: Perspectives and achieved progress. *Seminars in cancer biology*, 83, 452–471. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.07.015>

Pabla, N., ve Dong, Z. (2008). Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney international*, 73(9), 994–1007. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002786>

Perše M. (2021). Cisplatin Mouse Models: Treatment, Toxicity and Translatability. *Biomedicines*, 9(10), 1406. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9101406>

Pink, R. C., Wicks, K., Caley, D. P., Punch, E. K., Jacobs, L., ve Carter, D. R. (2011). Pseudogenes: pseudo-functional or key regulators in health and disease?. *RNA (New York, N.Y.)*, 17(5), 792–798. <https://doi.org/10.1261/rna.2658311>

Poliseno, L., Salmena, L., Zhang, J., Carver, B., Haveman, W. J., ve Pandolfi, P. P. (2010). A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. *Nature*, 465(7301), 1033–1038. <https://doi.org/10.1038/nature09144>

Qi X, Zhang D, Wu N, ve diğerleri. ceRNA in cancer: possible functions and clinical implications

Qian, S.H., Chen, L., Xiong, YL. Ve diğerleri. Evolution and function of developmentally dynamic pseudogenes in mammals. *Genome Biol* 23, 235 (2022). <https://doi.org/10.1186/s13059-022-02802-y>

Ramalho, S., Dopler, A., ve Faller, W. J. (2024). Ribosome specialization in cancer: a spotlight on ribosomal proteins. *NAR cancer*, 6(3), zcae029. <https://doi.org/10.1093/narcan/zcae029>

Siegel, R. L., Miller, K. D., Wagle, N. S., ve Jemal, A. (2023). Cancer statistics, 2023. *CA: a cancer journal for clinicians*, 73(1), 17–48. <https://doi.org/10.3322/caac.21763>

Silvestri, G. A., Gonzalez, A. V., Jantz, M. A., Margolis, M. L., Gould, M. K., Tanoue, L. T., Harris, L. J., & Detterbeck, F. C. (2013). Methods for staging non-small cell lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*, 143(5 Suppl), e211S–e250S. <https://doi.org/10.1378/chest.12-2355> .

Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., ve Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>

Taritsa, I. C., ve Fossel, E. T. (2025). Side-stepping the guardian of the genome: current cancer therapeutics targeting mutant p53. *Frontiers in pharmacology*, 16, 1529483. <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1529483>

Tárnoki, Á. D., Tárnoki, D. L., Dąbrowska, M., Knetki-Wróblewska, M., Frille, A., Stubbs, H., Blyth, K. G., ve Juul, A. D. (2024). New developments in the imaging of lung

cancer. *Breathe (Sheffield, England)*, 20(1), 230176. <https://doi.org/10.1183/20734735.0176-2023>

Tay, Y., Rinn, J., ve Pandolfi, P. P. (2014). The multilayered complexity of ceRNA crosstalk and competition. *Nature*, 505(7483), 344–352. <https://doi.org/10.1038/nature12986>

Travis, W. D., Brambilla, E., Nicholson, A. G., ve diğerleri (2015). The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*, 10(9), 1243–1260. <https://doi.org/10.1097/JTO.0000000000000630>

Verhelst, S., Van Puyvelde, B., Willems, S., Daled, S., Cornelis, S., Corveleyn, L., Willems, E., Deforce, D., De Clerck, L., ve Dhaenens, M. (2022). A large scale mass spectrometry-based histone screening for assessing epigenetic developmental toxicity. *Scientific reports*, 12(1), 1256. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05268-x>

World Health Organization. (1 Şubat 2024). Global cancer burden growing, amidst mounting need for services.

Wu, Q., Zhang, Z., Ji, M., Yan, T., Jiang, Y., Chen, Y., Chang, J., Zhang, J., Tang, D., Zhu, D., ve Wei, Y. (2022). The Establishment and Experimental Verification of an lncRNA-Derived CD8+ T Cell Infiltration ceRNA Network in Colorectal Cancer. *Clinical Medicine Insights. Oncology*, 16, 11795549221092218. <https://doi.org/10.1177/11795549221092218>

Xu, Y., Yu, X., Wei, C., Nie, F., Huang, M., ve Sun, M. (2018). Over-expression of oncogenic pseudogene DUXAP10 promotes cell proliferation and invasion by regulating LATS1 and β -catenin in gastric cancer. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*, 37(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s13046-018-0684-8>

Yu, Y., Xu, S., Zhao, E., Dong, Y., Chen, J., Rao, B., Zeng, J., Yang, L., Lu, J., ve Qiu, F. (2022). Identification of a 10-pseudogenes signature as a novel prognosis biomarker for ovarian cancer. *BIOCELL*, 46(4), 999–1011. <https://doi.org/10.32604/biocell.2022.017004>

Zhao, Y. Q., Zhang, H. H., Wu, J., Li, L., Li, J., Zhong, H., Jin, Y., Lei, T. Y., Zhao, X. Y., Xu, B., Song, Q. B., ve He, J. (2023). Prediction of Tumor Microenvironment Characteristics and Treatment Response in Lung Squamous Cell Carcinoma by Pseudogene

OR7E47P-related Immune Genes. *Current medical science*, 43(6), 1133–1150. <https://doi.org/10.1007/s11596-023-2798-2>

Zheng, D., Frankish, A., Baertsch, R., Kapranov, P., Reymond, A., Choo, S. W., ve diğerleri (2007). Pseudogenes in the ENCODE regions: Consensus annotation, analysis of transcription, and evolution. *Genome Research*, 17(6), 839–851. <https://doi.org/10.1101/gr.5586307>

Zhou, J., Cheng, T., Li, X., ve diğerleri (2021). Epigenetic imprinting alterations as effective diagnostic biomarkers for early-stage lung cancer and small pulmonary nodules. *Clinical epigenetics*, 13(1), 220. <https://doi.org/10.1186/s13148-021-01203-5>

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“.....”
.....” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

.....
Öğrencinin Adı ve Soyadı
... / ... / ...

9. ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : ÜLGÜ, Gülşah Nur
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Nazilli/ AYDIN, 11.07.1999
Telefon : 0 (545) 330 7578
E-mail : gulsahnur09@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce (Orta), Almanca (Temel), Korece (Temel)

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı	2025- Devam ediyor
Lisans	Uşak Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü	2022

BURSLAR

RPS26P25 Pseudogeninin Glioblastomdaki Fonksiyonel Rolünün Araştırılması konulu
TÜBİTAK-1001 Öğrenci Bursu

AKADEMİK YAYINLAR

1. PROJELER

Proje Adı	Kurum	Yıl	Görev	Proje Türü
Akciğer kanserinde RPS26P25 pseudogeninin hücre canlılığı, apoptoz ve hücre döngüsü üzerindeki etkisinin araştırılması	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	2024-2025	Araştırmacı	Kurumsal

2. BİLDİRİLER

Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler

- Gülşah Nur ÜLGÜ, Mehmet Can Katuka, Badegül Akyol, Bakiye Göker Bağca.**
RPS26P25 Pseudogeninin Susturulması, Akciğer Kanser Hücrelerinde Apoptozu İndükler, 13. Ege Hematoloji Onkoloji Kongresi, 13-15 Mart 2025, Antalya (Sözlü Bildiri)
- Mehmet Can Katuka, Badegül Akyol, Gülşah Nur ÜLGÜ, Bakiye Göker Bağca.**
MİR-146-3P' nin Akciğer Kanseri Hücre Hattındaki Potansiyel Rolü, 13. Ege Hematoloji Onkoloji Kongresi, 13-15 Mart 2025, Antalya (Sözlü Bildiri)
- Badegül Akyol, Gülşah Nur ÜLGÜ, Mehmet Can Katuka, Bakiye Göker Bağca.**
RPS26P25 Pseudogeninin Susturulması Meme Kanseri Hücre Hatlarında Apoptozu İndükleyerek Sisplatinin Hücrelerdeki Rolünü Desteklemektedir, 13. Ege Hematoloji Onkoloji Kongresi, 13-15 Mart 2025, Antalya (Sözlü Bildiri)