T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

GÜLHANE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İNSAN 3D CİLT MODELİNDE NİTROJEN MUSTARD ANALOGLARININ NEDEN OLDUĞU TOKSİSİTENİN ARAŞTIRILMASI VE MİRNA DÜZENLEMESİNİN ROLÜ

Prof. Dr. Ahu Pakdemirli

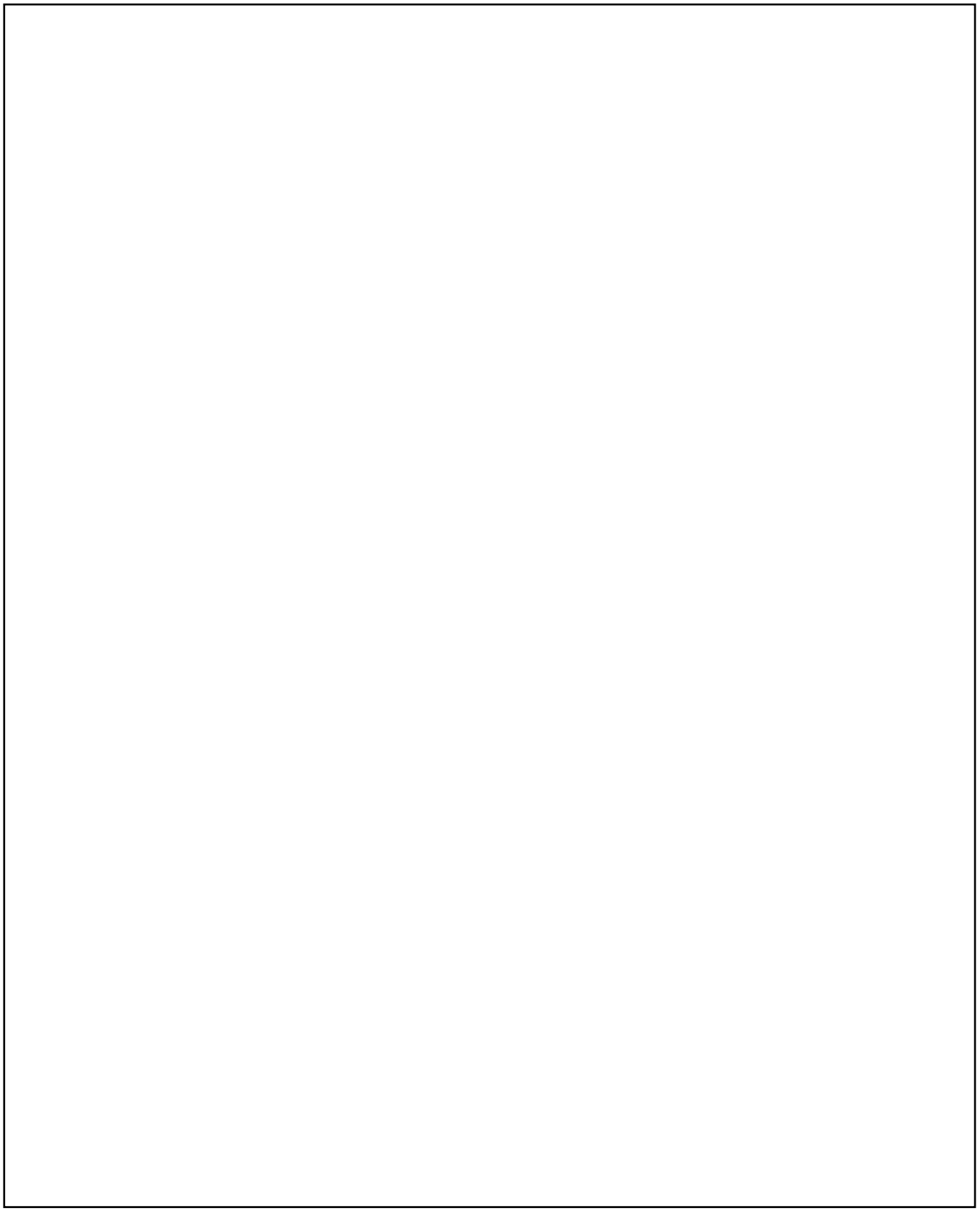
Doç. Dr. Sermet Sezigen

Prof. Dr. Yasemin Başbınar

TIBBİ KBRN

DOKTORA TEZİ

2026



BEYAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

• Mevcut tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu,

• Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,

• Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,

• Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,

• Mevcut tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,

• Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Prof. Dr. Ahu Pakdemirli
05.02.2026

ÖZET

İNSAN 3D CİLT MODELİNDE NİTROJEN MUSTARD ANALOGLARININ NEDEN OLDUĞU TOKSİSİTENİN ARAŞTIRILMASI VE MİRNA DÜZENLEMESİNİN ROLÜ

Nitrojen mustard analogları, alkilleyici ajanlar sınıfında yer alan ve güçlü sitotoksik özellikleri nedeniyle kimyasal savaş ajanları arasında değerlendirilen vezikan bileşiklerdir. Bu ajanlar, hücresel makromoleküllerle kovalent bağlar oluşturarak DNA alkilasyonu, hücre döngüsünün durması ve hücresel ölümle sonuçlanan toksik etkilere neden olmaktadır. Deri, vezikan ajanlara maruziyette ilk temas noktası olması ve yüksek duyarlılığı nedeniyle toksik etkilerin en belirgin gözlendiği organdır. Maruziyeti takiben epidermal ve dermal tabakalarda inflamasyon, hücresel stres yanıtları ve doku bütünlüğünde bozulmalar meydana gelmektedir. Bu süreçte epidermal ve dermal hücreler arasındaki etkileşimler, toksisite yanıtının şekillenmesinde kritik rol oynamaktadır.

Literatürde nitrojen mustardların toksisite profilleri hem iki boyutlu (2D) tek tip hücre modellerinde hem de epidermis ve dermisi birlikte içeren üç boyutlu (3D) cilt modellerinde incelenmiştir. Yapılan çalışmalar, 3D ko-kültür sistemlerinin epidermis–dermis etkileşimlerini, hücresel iletişimi, doku mimarisini ve inflamatuar yanıtları fizyolojik olarak daha gerçekçi biçimde yansıttığını göstermektedir. Bu yönüyle 3D modeller, vezikan ajanlara bağlı deri toksisitesinin mekanistik olarak daha doğru değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır. Ayrıca mikro RNA'ların (miRNA'lar), toksisiteye bağlı hücresel stres yanıtlarının, inflamasyonun ve apoptoz süreçlerinin düzenlenmesinde önemli rol oynadığı ve potansiyel biyobelirteçler olarak kullanılabileceği de bildirilmektedir. Ancak nitrojen mustardlara bağlı deri toksisitesinde miRNA düzenlemesinin, özellikle 3D insan cilt modellerinde, sınırlı sayıda çalışmada ele alındığı görülmektedir.

Bu çalışmada, insan dermal fibroblastları (HDF) ve insan keratinosit (HaCaT) hücrelerinden oluşturulan 3D insan cilt ko-kültür modeli kullanılarak, vezikan özellikte bir nitrojen mustard ajanı olan mekloretamin hidroklorür (HN2) maruziyetine bağlı toksisitenin araştırılması ve bu süreçte miRNA düzenlemesinin rolünün ortaya konulması amaçlanmıştır.

Çalışma kapsamında HN2'nin neden olduğu hücresel toksisite yanıtları değerlendirilmiş, maruziyete bağlı değişen miRNA ekspresyon profilleri analiz edilmiş ve bu miRNA'ların ilişkili olduğu biyolojik yolaklar incelenmiştir. Elde edilen bulgular, HN2 maruziyetinin 3D cilt modelinde belirgin hücresel stres, inflamasyon ve toksisite yanıtlarına yol açtığını ve miRNA'ların bu süreçlerde önemli düzenleyici roller üstlendiğini göstermektedir. Bu çalışma, nitrojen mustard kaynaklı deri toksisitesinin moleküler temellerinin anlaşılmasına katkı sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler : Nitrojen mustard, mekloretamin hidroklorür, 3D cilt modeli, HDF, HaCaT, miRNA

Yazar Adı : Prof. Dr. Ahu PAKDEMİRLİ

Danışman : Doç. Dr. Sermet SEZİGEN

İkinci Danışman : Prof. Dr. Yasemin BAŞBINAR

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE TOXICITY INDUCED BY NITROGEN MUSTARD ANALOGS IN A HUMAN 3D SKIN MODEL AND THE ROLE OF MIRNA REGULATION

Nitrogen mustard analogs are vesicant compounds classified as alkylating agents and are considered chemical warfare agents due to their potent cytotoxic properties. They exert toxic effects by forming covalent bonds with cellular macromolecules, leading to DNA alkylation, cell cycle arrest, and cell death. The skin is the primary site of exposure to vesicant agents and is therefore the organ in which toxic effects are most prominently observed. Following exposure, inflammatory responses, cellular stress reactions, and disruption of tissue integrity occur within the epidermal and dermal layers. Interactions between epidermal and dermal cells play a critical role in determining the overall toxicity response.

The toxicity profiles of nitrogen mustards have been investigated using both two-dimensional (2D) monoculture systems and three-dimensional (3D) skin models that incorporate epidermal and dermal components. Previous studies have demonstrated that 3D co-culture models more accurately reflect the epidermis–dermis interactions, tissue architecture, and inflammatory responses compared to 2D systems, thereby providing a more physiologically relevant platform for mechanistic toxicity assessment. In addition, microRNAs (miRNAs) are known to regulate cellular stress responses, inflammation, and apoptosis associated with toxic exposures and have been proposed as potential biomarkers. However, miRNA regulation in nitrogen mustard–induced skin toxicity, particularly in 3D human skin models, remains insufficiently explored.

In this study, a 3D human skin co-culture model composed of human dermal fibroblasts (HDF) and human keratinocytes (HaCaT) was used to investigate toxicity induced by mechlorethamine hydrochloride (HN2), a vesicant nitrogen mustard agent, and to elucidate the role of miRNA regulation in this process. Cellular toxicity responses to HN2 exposure were evaluated, exposure-related changes in miRNA expression profiles were analyzed, and

associated biological pathways were examined. The findings demonstrate that HN2 induces marked cellular stress, inflammation, and toxicity in the 3D skin model, with miRNAs acting as important regulatory mediators.

Keywords : Nitrogen mustard, mechlorethamine hydrochloride, 3D skin model, HDF, HaCaT, microRNA

Author Name : Prof. Dr. Ahu PAKDEMİRLİ

Counselor : Doç. Dr. Sermet SEZİGEN

Second Counselor : Prof. Dr. Yasemin BAŞBINAR

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince her aşamada bilgi, deneyim ve desteklerini esirgemeyen; kendilerinden çok şey öğrenme ayrıcalığına sahip olduğum değerli tez danışmanlarım Doç. Dr. Sermet SEZİGEN'e ve Prof. Dr. Yasemin BAŞBINAR'a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Doktora eğitimime katkı sağlayan kıymetli hocalarım Prof. Dr. Selçuk KILIÇ, Prof. Dr. Levent KENAR, Prof. Dr. Bahar DİRİCAN ve Prof. Dr. Mesut ORTATATLI'ya teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımın her aşamasında yanımda olan Doç. Dr. Gizem ÇALIBAŞI'na; birlikte doktora eğitimi aldığım dönem arkadaşlarımdan Prof. Dr. Erdim SERTOĞLU'na, örneklerin hazırlanması sürecindeki katkılarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Nazlı MERT'e ve Doktora öğrencisi Nurçin KAYACIK'a; analiz sürecindeki katkılarından dolayı Prof. Dr. Hülya ELLİDOKUZ'a teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresince sundukları kurumsal destek ve sağladıkları akademik olanaklar dolayısıyla Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kurucu Rektörü Prof. Dr. Cevdet Erdöl'e ve Rektör Prof. Dr. Kemalettin Aydın'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Akademik yolculuğum boyunca desteğini her zaman hissettiren değerli eşim Doç. Dr. Bekir PAKDEMİRLİ'ye ve en büyük motivasyon kaynağım olan canım evlatlarım Burak, Emir, Mete ve Kerem'e en içten sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET i

ABSTRACT iii

TEŞEKKÜR v

İÇİNDEKİLER v

ŞEKİLLER DİZİNİ viii

TABLOLAR DİZİNİ x

SİMGELER VE KISALTMALAR xi

1. GİRİŞ VE AMAÇ 1

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1. KİMYASAL SİLAHLAR TANIMI VE TARİHÇESİ 3

2.1.1. Kimyasal Savaş Ajanları (KSA) 6

2.1.2. Yakıcı Ajanlar (Vezikanlar) 8

2.2. NİTROJEN MUSTARD ETKİ MEKANİZMASI VE TOKSİKOLOJİSİ 10

2.3. DERİ FİZYOLOJİSİ, İNSAN DERMAL FİBROBLAST (HDF) VE İNSAN KERATİNOSİT (HACAT) HÜCRELERİN YARA İYİLEŞMESİNDEKİ ROLÜ-KLİNİK ÖNEMİ 13

2.3.1. HDF Hücreleri: Özellikleri, Yara İyileşmesindeki Rolü ve Klinik Önemi 14

2.3.2. HaCaT Hücreleri: Özellikleri, Yara İyileşmesindeki Rolü ve Klinik Önemi 15

2.3.3. HDF ve HaCaT Hücrelerinin Yara İyileşmesi Açısından Karşılaştırılması 17

2.4. TRANSKRİPTOMİK VE BİYOİNFORMATİK ÇALIŞMALAR 18

3. GEREÇ VE YÖNTEM 21

3.1. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER 21

3.2. KULLANILAN CİHAZLAR VE SARF MALZEMELERİ 21

3.3. TEST İÇİN HÜCRELERİN VE DENEYİN HAZIRLANMASI 22

3.3.1. Hücrelerin Çoğaltılması ve Hücre Kültürü Numunelerin Hazırlanması 22

3.3.2. Hücre Canlılığının Belirlenmesi – Ajanların Uygulanması 23
3.4. TOTAL RNA İZOLASYONU 24
3.5. BİYOİNFORMATİK ANALİZLER 24
3.6. VERİ İŞLEME 26
3.6.1. Örnek Grupları 26
3.6.2. Filtreleme ve Normalizasyon 26
3.6.3. Yolak ve miRNA Analizi 27
4. BULGULAR 29
4.1. HÜCRE CANLILIĞI 29
4.2. BİYOİNFORMATİK ANALİZLER 29
4.2.1. Kümeleme 29
4.2.2. Yolak Analizi 32
4.2.3. miRNA Analizi 388
5. TARTIŞMA 45
6. SONUÇ 50
7. KAYNAKLAR 51
ÖZ GEÇMİŞ 59

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Sülfür ve nitrojen mustardların kimyasal yapıları 10
Şekil 3.1. RNA-seq veri işleme akışı 25
Şekil 3.2. Ham ve normalize edilmiş verilerdeki tüm transkriptlerin TPM (Transcripts Per Million) dağılımları 27
Şekil 4.1. HaCaT ve HDF hücre hatlarında hücre canlılığı 29
Şekil 4.2. Örneklerin PCA sonrası PC1 ve PC2 düzlemindeki dağılımları 30
Şekil 4.3. Örnekler arasında en fazla varyasyon gösteren ilk 50 genin ekspresyon profili 31
Şekil 4.4. HDF hücrelerine kimyasal uygulanmasının ardından azalmış genlerde seçili yolakların kat zenginleşmesi.....32
Şekil 4.5. HDF hücrelerine kimyasal uygulanmasının ardından artmış genlerde seçili yolakların kat zenginleşmesi 33
Şekil 4.6. HDF hücrelerine kimyasal uygulanmadan artmış genlerde seçili yolakların kat zenginleşmesi 34
Şekil 4.7. HDF hücrelerine kimyasal uygulanmadan azalmış genlerde seçili yolakların kat zenginleşmesi 34
Şekil 4.8. HaCaT hücrelerine kimyasal uygulanmadan azalmış genlerde seçili yolakların kat zenginleşmesi 35
Şekil 4.9. HaCaT hücrelerine kimyasal uygulanmadan artmış genlerde seçili yolakların kat zenginleşmesi 36
Şekil 4.10. HaCaT hücrelerine kimyasal uygulanmasının ardından azalmış genlerde seçili yolakların kat zenginleşmesi 37
Şekil 4.11. HaCaT hücrelerine kimyasal uygulanmasının ardından artmış genlerde seçili yolakların kat zenginleşmesi 38
Şekil 4.12. Grup 1 için hsa-miR-124-3p ve hsa-miR-218-5p mikroRNA'larının ortak hedef gen olan KRT15 (Keratin 15) ile regülatör etkileşim ağı 39
Şekil 4.13. Grup 2 için miRNA'larının ortak hedef gen olan ile regülatör etkileşim ağı 40
Şekil 4.14. Grup 3 için miRNA'larının ortak hedef gen olan ile regülatör etkileşim ağı 41

Şekil 4.15. Grup 4 için miRNA'larının ortak hedef gen olan ile regülatör etkileşim ağı 42

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Sinir Ajanları Alt Grupları 6
Tablo 2.2. Vezikanların Alt Grupları 7
Tablo 2.3. Kargaşa Kontrol Ajanları Alt Grupları 8
Tablo 2.4. Mekloretamin Hidroklorür (HN2)'nin Moleküler Etki Mekanizması 13
Tablo 3.1. Çalışılan Umunelere İlişkin Grup Bilgileri, Okuma Sayıları Ve Hizalama Değerleri 26
Tablo 4.1. Çalışmadaki Önemli miRNA'lar..... 43

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATCC : Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu

CEES : 2-Kloroetil etil sülfid

DMEM : Dulbecco'nun Modifiye Edilmiş Kartal Besiyeri

DMSO : Dimetilsülfoksit

ECM : Ekstrasellüler Matriks

EDTA : Etilendiamintetraasetik asit

ELISA : Enzim Bağlı İmmünosorbent Testi

EMT : Epitelyal-Mezenkimal Geçiş

FBS : Fetal Sığır Serumu

FGF : Fibroblast Büyüme Faktörü

GA : Tabun

GB : Sarin

GD : Soman

GF : Siklosarin

GV : 2-(Dimethylamino)ethyl N,N-dimethylphosphoramidofluoridate

HaCaT : İnsan Keratinosit Hücreleri

HD : Bis(2-kloroetil) sülfür (Mustard gazı)

HDF : İnsan Dermal Fibroblast

HN : Nitrojen Mustardın NATO kodu

HN1 : Bis(2-kloroetil)etilamin

HN2 : Bis(2-kloroetil)metilamin

HN3 : Tris(2-kloroetil)amin

IC_{50} : Hücrelerin %50 canlılık gösterdiği inhibisyon konsantrasyonu

KBRN : Kimyasal, Biyolojik, Radyolojik ve Nükleer.

KRT15 : Keratin 15

KSA : Kimyasal Savaş Ajanı

KSS : Kimyasal Silahlar Sözleşmesi

L : Lewisite

LC_{50} : Letal Konsantrasyon %50

LDH : Laktat Dehidrogenaz

MDS : Çok Boyutlu Ölçekleme

miRNA	: mikroRNA
MMP	: Matriks metalloproteinaz
MTT	: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-dipeniltetrazoliyum bromid
NM	: Nitrojen Mustard
KSYÖ	: Kimyasal Silahların Yasaklanması Örgütü
PBS	: Fosfat Tamponlu Salin
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RPM	: Dakikadaki Devir Sayısı
SM	: Sülfür Mustard
UVA	: Ultraviyole A
UVB	: Ultraviyole B
VE	: O-etil-S-2-dietilaminoetil etil fosfonotiyoat
VG	: O,O-dietil S-2-dietilaminoetil fosforotiyoat
VM	: O-etil S-2-dietilaminoetil metilfosfonotiat
VR	: N-dietil-2-(metil-(2-metilpropoksi)fosforil)sülfaniletanamin
VX	: O-etil S-2-diizopropilaminoetil metil fosfonotiyolat
2D	: 2 Boyutlu
3D	: 3 Boyutlu

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mustard vezikanları, güçlü alkilleyici özellikleri nedeniyle deri başta olmak üzere çok sayıda dokuda ciddi akut ve kronik hasara yol açan kimyasal savaş ajanlarıdır. Bu grup içerisinde yer alan nitrojen mustardlar, reaktif kloroetil yan zincirleri aracılığıyla hücresel makromoleküllerle kovalent bağlar oluşturarak DNA alkilasyonu, zincirler arası çapraz bağ oluşumu ve hücre döngüsünün durması gibi sitotoksik etkilere neden olmaktadır. Nitrojen mustardların bu etkileri, hücresel stres yanıtlarını tetikleyerek inflamasyon, apoptoz ve doku bütünlüğünde bozulma ile sonuçlanmaktadır.

Deri, vezikan ajanlara maruziyette ilk temas noktası olması ve yüksek duyarlılığı nedeniyle toksik etkilerin en erken ve en belirgin gözlendiği organdır. Maruziyeti takiben epidermal ve dermal tabakalarda inflamatuar yanıtlar, hücresel hasar, nekroz ve vezikül oluşumu meydana gelmekte; uzun dönemde ise yara iyileşmesinde gecikme ve doku yeniden yapılanmasında bozulmalar ortaya çıkmaktadır. Bu süreçlerde epidermisi temsil eden keratinositler ile dermisin temel hücre popülasyonu olan fibroblastlar arasındaki hücresel etkileşimler, toksisite yanıtının şekillenmesinde kritik bir rol oynamaktadır.

Geleneksel iki boyutlu hücre kültürü modelleri, hücreler arası etkileşimleri ve dokuya özgü mimariyi sınırlı düzeyde yansıtmaktadır. Bu nedenle, insan dermal fibroblastları (HDF) ile insan keratinosit hücreleri (HaCaT) birlikte kullanıldığı üç boyutlu (3D) ko-kültür cilt modelleri, epidermal–dermal etkileşimleri fizyolojik bir ortamda inceleme olanağı sunmaktadır. Bu modeller, vezikan ajanlara bağlı deri toksisitesinin *in vivo* koşullara daha yakın biçimde değerlendirilmesine olanak sağlayarak, hücresel yanıtların daha doğru ve bütüncül olarak analiz edilmesini mümkün kılmaktadır.

Bu çalışmada, vezikan özellikte bir nitrojen mustard ajanı olan mekloretamin hidroklorür (HN2) kullanılarak oluşturulan toksisite modeli ile 3D insan cilt ko-kültür sisteminde meydana gelen hücresel ve moleküler değişikliklerin incelenmesi amaçlanmıştır. HN2 maruziyetinin, epidermal ve dermal hücreler arasındaki etkileşimler üzerinden gelişen

toksik yanıtları nasıl şekillendirdiği ve bu süreçlerin moleküler düzenleyiciler tarafından nasıl kontrol edildiği halen tam olarak aydınlatılamamıştır.

Son yıllarda, hücresel yanıtların düzenlenmesinde mikroRNA'ların (miRNA'lar) oynadığı rol giderek daha fazla önem kazanmaktadır. miRNA'lar, hedef genlerin ekspresyonunu post-transkripsiyonel düzeyde düzenleyerek inflamasyon, hücre proliferasyonu, apoptoz ve yara iyileşmesi gibi süreçlerde belirleyici etkilere sahiptir. Ancak nitrojen mustardlara bağlı deri toksisitesinde miRNA düzenleme mekanizmalarının, özellikle 3D insan cilt ko-kültür modellerinde, sınırlı sayıda çalışmada ele alındığı görülmektedir.

Bu kapsamda, çalışmamızın amacı; HDF ve HaCaT hücreleri ile oluşturulan 3D insan cilt ko-kültür modelinde, HN2 maruziyetine bağlı olarak gelişen toksisitenin araştırılması ve bu süreçte miRNA düzenlemesinin rolünün ortaya konulmasıdır. Bu kapsamda, HN2'nin neden olduğu hücresel hasar yanıtlarının değerlendirilmesi, farklılaşan miRNA ekspresyon profillerinin belirlenmesi ve bu miRNA'ların ilişkili olduğu biyolojik yolakların analiz edilmesi hedeflenmiştir.

Bu çalışma ile, nitrojen mustard kaynaklı deri toksisitesinin dokuya özgü ve moleküler temellerinin daha iyi anlaşılması, ayrıca miRNA temelli potansiyel biyobelirteçlerin ve terapötik hedeflerin tanımlanmasına katkı sağlanması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KİMYASAL SİLAHLAR TANIMI VE TARİHÇESİ

Kimyasal silahlar, toksik kimyasal maddelerin öldürücü, yaralayıcı veya iş göremez hâle getirici etkilerinden yararlanarak hedefleri etkisiz bırakmak amacıyla tasarlanmıştır [1]. Yaygın panik ve düzensizlik oluşturmak, canlıları öldürmek veya yaralayarak etkisiz bırakmak, fizyolojik işlevlerini bozmak yoluyla faaliyet dışı kılmak, ayrıca ekonomik değeri yüksek hedefleri—örneğin besin kaynaklarını—kullanılamaz duruma getirmek gibi amaçlarla kullanılan; yüksek toksisiteye sahip, çevresel koşullara oldukça dayanıklı ve üretimi görece kolay kimyasal maddeler, kimyasal silah ya da kimyasal savaş ajanları (KSA) olarak adlandırılır [2-4]. Bu ajanlar katı, sıvı ya da gaz formunda bulunabilir ve solunum sistemi, sindirim yolu veya deri ve mukozal yüzeylerden emilerek canlı organizmalara etki ederler. Kimyasal savaş ajanlarının en belirgin özelliği, konvansiyonel silahlara kıyasla çok daha geniş çaplı ölümlere ve yaralanmalara yol açma potansiyelleridir. Kimyasal savaş ajanları, günlük hayatta kolayca elde edilebilen kimyasallardan ucuz ve basit yöntemlerle üretilebilir; küçük terörist gruplar tarafından az miktarlarda kullanıldığında bile kitlesel zayiatlar yaratabilir [4,5].

Kimyasal Silahlar Sözleşmesi (KSS), kimyasal silahları "toksik kimyasal maddeler ve bunların prekürsörleri ile bunları yaymak için tasarlanmış mühimmat, cihaz ve diğer ekipmanların tamamı" olarak tanımlar. Sinir ajanları (sarin, VX), vezikanlar (sülfür mustard, lewisit), boğucu ajanlar (fosgen, klor), kan ajanları (hidrojen siyanür) ve kontrol edici kimyasallar bu kapsamda yer alır [6-8].

Kimyasal silahların kullanımı antik çağlara kadar uzanır; örneğin, Antik Yunan ve Roma dönemlerinde zehirli dumanlar ve maddeler savaşlarda kullanılmıştır. Ancak modern anlamda kimyasal silahların ilk büyük ölçekli ve sistematik kullanımı, I. Dünya Savaşı'nda gerçekleşmiştir. 22 Nisan 1915'te, Ypres Muharebesi sırasında Alman ordusu tarafından yaklaşık 150 ton klor gazı, 6000 silindirden Müttefik siperlerine salınmış ve bu saldırı, savaş tarihinde bir dönüm noktası olmuştur. Bu ilk saldırıda yaklaşık 800 asker hayatını kaybetmiş, 2500-3000 asker ise gazdan etkilenerek savaş dışı kalmıştır [9-12].

Savaşın ilerleyen dönemlerinde, klor gazına ek olarak daha öldürücü ve etkili kimyasal ajanlar kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle fosgen, difosgen ve sülfür mustard (hardal gazı) gibi ajanlar hem ölümcül etkileri hem de uzun vadeli sağlık sorunlarına yol açmalarıyla öne çıkmıştır. Fosgen, solunum yollarında ciddi hasara neden olmuş ve I. Dünya Savaşı'ndaki kimyasal silah kaynaklı ölümlerin yaklaşık %85'inden sorumlu tutulmuştur. Sülfür mustard ise ilk kez 1917'de Ypres yakınlarında kullanılmış ve ciltte, gözlerde ve solunum yollarında ciddi yanıklara, körlüğe ve kalıcı sakatlıklara yol açmıştır [6,13-15].

Savaş boyunca her iki taraf da kimyasal silahları yaygın şekilde kullandığı için toplamda yaklaşık bir milyon askerin kimyasal silahlar nedeniyle öldüğü veya sakat kaldığı tahmin edilmektedir. Kimyasal silahların yol açtığı bu büyük insani kayıplar, savaş sonrası uluslararası toplumun tepkisine neden olmuş ve 1925 Cenevre Protokolü ile kimyasal silahların kullanımı yasaklanmıştır [6,10,11,13].

II. Dünya Savaşı'nda kimyasal silahlar geniş ölçekli olarak kullanılmamış, ancak bu dönemde Almanya tarafından tabun, sarin ve soman gibi yüksek toksisiteye sahip organofosforlu sinir ajanları geliştirilmiştir. Bu ajanlar, Alman kimyager Gerhard Schrader ve ekibi tarafından 1930'lu ve 1940'lı yıllarda sentezlenmiş, savaş boyunca büyük miktarlarda üretilmiş fakat savaş alanında kullanılmamıştır. Tabun 1936'da, sarin 1938'de, soman ise 1944'te sentezlenmiş ve Nazi Almanya'sı bu ajanların üretiminde lider konumda olmuştur. Savaş sonrası bu bilgi ve teknolojiler, ABD ve İngiltere gibi ülkelerin askeri programlarına da aktarılmıştır [16-20].

1980'lerde ise İran-Irak Savaşı sırasında kimyasal silahlar, özellikle Irak tarafından sistematik ve yaygın şekilde kullanılmıştır. Irak, hardal gazı (sülfür mustard) ve sinir ajanları (tabun, sarin) gibi kimyasal silahları hem İran askerlerine hem de sivil halka karşı kullanmıştır. Bu saldırılar sonucunda on binlerce kişi ölmüş veya kalıcı olarak sakat kalmıştır. Özellikle Halepçe'de 1988'de gerçekleştirilen kimyasal saldırı, binlerce sivilin ölümüne yol açmış ve kimyasal silahların yıkıcı etkisini bir kez daha gözler önüne sermiştir [21-25].

Suriye'de ise 2011'den itibaren başlayan iç savaş sırasında, çeşitli uluslararası kuruluşlar ve Birleşmiş Milletler tarafından doğrulanan çok sayıda kimyasal silah saldırısı

gerçekleşmiştir. Özellikle 2013'te Şam'ın Guta bölgesinde ve 2017'de İdlib'in Han Şeyhun kasabasında sarin ve klor gazı kullanılmış, bu saldırılarda büyük çoğunluğu sivil olmak üzere yüzlerce kişi hayatını kaybetmiş veya yaralanmıştır. Suriye'deki kimyasal saldırıların çoğunun sivilleri hedef aldığı ve uluslararası insancıl hukukun ağır şekilde ihlal edildiği rapor edilmiştir [26-28].

1925 Cenevre Protokolü, boğucu ve zehirli gazlar ile biyolojik silahların savaşta kullanımını yasaklamış; ancak kimyasal silahların geliştirilmesini, üretilmesini ve stoklanmasını engellememiştir. Protokol, yalnızca protokole taraf devletler arasında geçerli olmuş ve birçok ülke kimyasal silahların ilk kullanımı durumunda misilleme hakkını saklı tutmuştur. Ayrıca, protokolde herhangi bir denetim veya yaptırım mekanizması bulunmamaktadır. Bu nedenle, protokolün yürürlüğe girmesinden sonra dahi kimyasal silahların üretimi ve stoklanması devam etmiş, özellikle İran-Irak Savaşı gibi çatışmalarda kimyasal silahların kullanımı engellenememiştir [29-32].

Bu eksiklikler, uluslararası toplumun daha kapsamlı ve bağlayıcı bir düzenlemeye ihtiyaç duymasına yol açmıştır. 1997'de yürürlüğe giren KSS, kimyasal silahların geliştirilmesi, üretimi, depolanması, transferi ve kullanımını tamamen yasaklamış; mevcut stokların belirli bir süre içinde imha edilmesini zorunlu kılmıştır. KSS; aynı zamanda Kimyasal Silahların Yasaklanması Örgütü'ne (KSYÖ) denetim ve doğrulama yetkisi vermiştir. KSYÖ taraf devletlerde düzenli denetimler yaparak hem askeri hem de sivil tesislerde kimyasal silahların üretimini ve stoklanmasını engellemeye çalışmaktadır [33,34].

Günümüzde 193 ülke KSS'ye taraftır ve bu geniş uluslararası katılım, sözleşmeyi en evrensel silahsızlanma anlaşmalarından biri haline getirmiştir. Sözleşme kapsamında bugüne kadar bildirilen kimyasal silah stoklarının tamamı (%100) imha edilmiştir. Ancak yakın geçmişte, Suriye, Irak ve bazı diğer bölgelerde kimyasal silah kullanımı rapor edilmiştir. Özellikle Suriye'de 2013'ten bu yana KSYÖ ve Birleşmiş Milletler tarafından çok sayıda kimyasal saldırı doğrulanmış hem devlet hem de devlet dışı aktörlerin kimyasal silah kullandığı tespit edilmiştir. Bu durum, uluslararası denetim ve yaptırım mekanizmalarının etkinliğinin artırılması gerekliliğini gündeme getirmiştir [35-37].

2.1.1. Kimyasal Savaş Ajanları (KSA)

Kimyasal savaş ajanları, değişen tehditler ve yeni kimyasal bileşiklerin keşfiyle birlikte çeşitlenen ve genişleyen bir sınıflandırmaya sahiptir [38-43].

a. Sinir ajanları:

Asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek nöromüsküler iletimi durduran, en ölümcül kimyasal ajanlardır. Çok hızlı etki, yüksek letalite, buharlaşabilir form ve antikolinesteraz etki gibi yönleri mevcuttur (Tablo 2.1.).

Tablo 2.1. Sinir Ajanlarının Alt Grupları

G serisi	Tabun (GA) Sarin (GB) Soman (GD) Siklosarin (GF)
GV serisi	Novichok ajanları 2-(Dimethylamino)ethyl *N*,*N*-dimethylphosphoramidofluoridate (GV)
V serisi	O-etil-S-2-dietilaminoetil etil fosfonotiyoat (VE) O,O-dietil S-2-dietilaminoetil fosforotiyoat (VG) O-etil S-2-dietilaminoetil metilfosfonotiat (VM) O-etil S-2-diizopropilaminoetil metil fosfonotiyolat (VX)

b. Boğucu ajanlar:

Solunum yollarını ve akciğer dokusunu hedef alır; pulmoner ödem ile ölüme yol açabilir. Bu etkilere yol açan KSA'ları ve toksik endüstriyel kimyasallar;

- Klor
- Kloropikrin
- Difosgen
- Fosgen
- Amonyak
- Brom
- Hidrojen klorür
- Metil bromür
- Metil izosiyanat
- Fosfin
- Fosfor, elementel (beyaz veya sarı)

- Sülfüril florür'dür.

c. Yakıcı ajanlar (Vezikanlar):
Cilt, göz ve solunum yollarında ciddi kimyasal yanıklara neden olur (Tablo 2.2.).

Tablo 2.2. Vezikanların Alt Grupları

Arsenikler	Etildikloroarsin Metildikloroarsin Fenildikloroarsin 2-Klorovinyildikloroarsin (Lewisit; L)
Nitrojen mustard'lar	Bis(2-kloroetil)etilamin (HN1) Bis(2-kloroetil)metilamin (HN2) Tris(2-kloroetil)amin (HN3)
Sülfür mustard'lar	1,2-Bis(2-kloroetiltiyo) etan 1,3-Bis(2-kloroetiltiyo)-n-propan 1,4-Bis(2-kloroetiltiyo)-n-bütan 1,5-Bis(2-kloroetiltiyo)-n-pentan 2-Kloroetilklorometilsülfür Bis(2-kloroetil) sülfür (Mustard gazı; HD) Bis(2-kloroetiltiyo) metan Bis(2-kloroetiltiyometil) eter Bis(2-kloroetiltiyoetil) eter
Ürtikanlar (deri nekrotizanları)	Fosgen oksim

d. Kapasite bozucu ajanlar:
Geçici bilinç, davranış veya algı bozukluğu oluştururlar; ölümcül değildirler.

- Psikolojik ajanlar
    - 3-Quinuclidinyl benzilat (BZ)
    - Fensiklidin
    - Liserjik asit dietilamid (LSD)

e. Kargaşa kontrol ajanları:
Göz ile mukozalarda geçici irritasyon oluşturur ve kolluk kuvvetleri tarafından kullanıldığı için KSA olarak sınıflandırılmaz (Tablo 2.3.).

Tablo 2.3. Kargaşa Kontrol Ajanlarının Alt Grupları

Göz yaşartıcı ajanlar	Benzil klorür Benzil bromür Bromoaseton Bromobenzil siyanür Bromometil etil keton Kapsaisin Klorasetofenon Klorometil kloroformat Dibenzoksazepin Etil iyodoasetat Ortho-chlorobenzylidene malononitrile (Süper göz yaşartıcı gaz) Triklorometil kloroformat Ksilil bromür
Kusturucu ajanlar	Adamsite Difenilkloroarsin Difenilsiyanoarsin
Malodorantlar	

f. Kan zehirleyici ajanlar:
Hücresel oksijen kullanımını engelleyerek hipoksik ölüme neden olan siyanür türevleridir.

- Hidrojen Siyanür
- Siyanojen Klorür
- Potasyum Siyanür
- Sodyum Siyanür
- Arsin
- Karbon Monoksit

Bu çalışmada vesikan nitrojen mustard ajanı olan Mekloretamin hidroklorür (HN2) kullanılmıştır.

2.1.2. Yakıcı Ajanlar (Vezikanlar)

Yakıcı ajanlar ya da vezikanlar, başta deri ve göz olmak üzere temas ettikleri dokularda şiddetli vezikül ve büller oluşturan, KSA sınıfına giren toksik kimyasal maddelerdir (Şekil 2.1). Maruziyet sonrası klinik tabloya çoğunlukla göz, deri ve solunum yollarında irritasyon, eritem,

ödem ve bunu izleyen karakteristik kabarcık–bül oluşumu hâkimdir; nemli dokular (göz, solunum mukozası, aksiller ve genital bölgeler) özellikle savunmasızdır. Güncel stoklarda ve tarihte en iyi bilinen vezikanlar, sülfür mustard (hardal gazı, H/HD/HT) ve organo-arsenik bileşik olan lewisit (L) ile yapısal olarak ilişkili bazı hardal türevleridir [44]. Bu ajanlar sıvı, aerosol veya buhar formunda dağıtılabilir ve uygun doz ve sürede maruziyet sonrası birkaç saatlik latent dönemi takiben ağrılı kimyasal yanıklar ve yaygın doku harabiyeti oluşturabilirler [45].

Sülfür mustard, iki fonksiyonlu güçlü bir alkilleyici olup hücresel proteinleri, enzimleri, DNA ve diğer nükleofilik hedefleri çapraz bağlayarak hücre ölümüne yol açar. Derideki hedef dokular esas olarak epidermal bazal keratinositler ve dermo-epidermal birleşim bölgesidir; burada laminin 332 gibi bazal membran bileşenlerinin yapısının bozulması, epidermolizis bullosa benzeri bir histolojik görünüm ve lamina lucida düzeyinde bül oluşumu ile sonuçlanır [46]. Klinik olarak eritem ve ödemi takiben 10–48 saat içinde kehribar renkli sıvı içeren veziküller ve büyük büller gelişir; bu lezyonlar günler–haftalar sürebilir ve pigmentasyon değişiklikleri, skar ve kronik inflamasyon gibi geç dönemi de içeren uzun süreli sekel bırakabilirler. Sülfür mustard maruziyetinin akut etkilerine ek olarak, kronik bronşit, keratit/keratopati ve deri kanseri gibi geç toksisiteler de bildirilmiştir. Karsinojenite bakımından sülfür mustard'ın benzo[a]piren ile benzer düzeyde bir potansiyele sahip olduğu, mutajenik etkisinin ise hem hücre kültürü hem deney hayvanı modellerinde gösterildiği bildirilmektedir [47].

Lewisit ise arsenik içeren çok güçlü ve hızlı etkili bir vezikan olup, topikal uygulamada bile ağrılı, akut inflamasyon ve mikrovezikasyonla seyreden kutanöz lezyonlara yol açar [48]. Deride reaktif oksijen türlerinin artışı, endoplazmik retikulum stresine bağlı "unfolded protein response" sinyal yollarının aktivasyonu ve belirgin keratinosit apoptozu, lewisit patogenezinin temel moleküler bileşenleridir. Bu farklı mekanizma, mustard ajanlarına göre sitokin profili ve inflamatuvar yanıt paterninde ayrışma ile de kendini gösterir. Lewisit maruziyetinde özellikle IL-1β ve IL-6 artışı, TNF ve IL-1α'da baskılanma gibi özgün değişiklikler tanımlanmış ve bu farklılıkların sahada maruz kalınan ajan tipini ayırt etmek için biyobelirteç olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür [49]. Yüksek akut toksisitesinin yanı sıra, lewisit maruziyeti sonrası Bowen hastalığı (intraepidermal yassı hücreli karsinom) olguları

bildirilmiş ancak üreme ve teratojenik etkiler açısından ikna edici veriler ortaya konamamıştır. Güncel araştırmalar hem sülfür mustard hem de lewisit için proteaz inhibitörleri, kimyasal "chaperone"lar ve antioksidanlar gibi ajanlarla inflamasyonun ve bül oluşumunun baskılanmasına odaklanmakta; böylece bu güçlü yakıcı ajanların neden olduğu deri ve oküler hasar için hedefe yönelik medikal karşı önlemler geliştirilmesi amaçlanmaktadır [50].

2.2. NİTROJEN MUSTARD ETKİ MEKANİZMASI VE TOKSİKOLOJİSİ

Nitrojen mustard (NM; bis(2-kloroetil)amin türevleri), güçlü bir bifonksiyonel DNA alkilleyici ve tipik bir vezikandır (Şekil 2.1.). Hücre içi nükleofilik hedeflere (özellikle DNA, proteinler ve membran lipidleri) kovalent bağlanarak çapraz bağlar, tek ve çift zincir DNA kırıkları ve DNA-protein çapraz bağları oluşturur; bu da hücre döngüsünün durmasına, apoptoz ve/veya nekrotik hücre ölümüne yol açar [51].

Göz, deri ve akciğer gibi hızla bölünen veya bariyer işlevi gören dokular NM'ye oldukça duyarlıdır; akut tabloda ödem, eritem, bül/vezikül oluşumu ve mukozal hasar; geç dönemde fibrozis ve skarlaşma ön plandadır [52]. Çeşitli nitrojen mustard türevleri (mekloretamin, klorambusil, melfalan vb.) kanser kemoterapisinde kullanılır ancak doza bağlı miyelosupresyon, mukozit ve sekonder kanser riski klinik kullanımını sınırlayan temel toksik etkilerdir.



Şekil 2.1. Sülfür ve nitrojen mustardların kimyasal yapıları

NM; DNA bazlarında özellikle N7 guaninde iki kademeli alkilleme ile DNA zincirleri arasında çapraz bağlar oluşturur; bu bağlar replikasyon ve transkripsiyonu engelleyerek genomik instabilite, mutasyon ve hücre ölümüne neden olur. Ayrıca proteinlerdeki tiyol ve amino gruplarıyla kovalent bağlanarak DNA-protein çapraz bağları ve enzim inaktivasyonu yapar. DNA tamir endonükleazlarının hedef alınması, tek ve çift zincir kırıklarının artmasına, buna bağlı apoptoz ve mitokondriyal disfonksiyona yol açar [54,55]. Göz korneasında NM

maruziyeti, reaktif oksijen türleri (ROS) ve lipid peroksidasyonunda belirgin artış, ferroptoz belirteçlerinde (ACSL4 artışı, SLC7A11 ve GPX4 azalması) değişim ve p38 MAPK aktivasyonu ile ilişkili ferroptotik hücre ölümü mekanizmasınınım aktivasyonuna neden olur [56]. NM maruziyeti; keratinositlerde ve deride mitokondriyal ROS artışı, SIRT3 ile SOD2 aktivitesinde azalma, NLRP3 inflamazomu aktivasyonu, kaspaz-1 aracılı IL-1β salınımı ve COX-2 ekspresyonu üzerinden şiddetli inflamatuar yanıt oluşturur [57].

Deriye topikal NM uygulaması, saatler–günler içinde epidermal kalınlaşma, epidermis-dermis ayrılması, epidermal nekroz, denudasyon, kabuk (skab) oluşumu, parakeratoz, hiperkeratoz ve akantozis ile karakterize lezyonlara neden olur. Dermiste nekroz, ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve eritrosit ekstravazasyonu izlenir [58]. Bu histopatolojik patern, sülfür mustard maruziyetinde gözlenen insan deri lezyonlarına oldukça benzerdir ve NM'yi vezikan toksisitesinin deneysel modeli hâline getirir [59]. Gözde; %2'lik NM ile birkaç dakikalık temas; epitel-stroma ayrılması, endotel kaybı, korneal kolajen yıkımı, neovaskülarizasyon ve ağır fonksiyon kaybı ile seyreden kimyasal keratopati oluşturur. ROS artışı, apoptoz, inflamatuvar belirteçlerin (COX-2, MMP-9, VEGF) yükselmesi ve sfingolipid dengesinde (aSMase aktivasyonu, seramid artışı) bozulma bu hasarın biyokimyasal temelini oluşturur [60].

NM'nin solunumsal maruziyetinde akciğerde akut inflamasyon, bronşiyolit ve devamında pulmoner fibrozis gelişir. Ratlarda intratrakeal NM uygulaması; önce proinflamatuvar/sitotoksik M1 (iNOS, COX-2, TNF-α, MMP-9/10 yüksek), ardından antiinflamatuvar/profibrotik M2 (IL-10, CTGF, ApoE yüksek) makrofajların birikimiyle seyreden kronik bir yanıt oluşturur ve bu makrofaj alt grupları doku hasarı ile fibrozisin ilerlemesinde kritik rol oynar [61].

NM deri yoluyla kolayca emilir ve doğrudan sitotoksisitenin yanı sıra aşırı aktive olmuş doğuştan immün yanıt üzerinden de hasar oluşturur. Fare modelinde topikal NM uygulaması, iNOS-pozitif inflamatuvar dermal makrofajları aktive eder. bu hücreler lokal doku yıkımını artırır, daha sonra kemik iliğine göç ederek hematopoezi bozar ve ciddi kilo kaybı ile mortaliteye katkıda bulunurlar [62]. Bu bulgular, NM'ye bağlı sistemik toksisitenin önemli bir bölümünün konağın immün yanıtının aşırı aktivasyonuna bağlı olduğunu göstermektedir.

Klinik onkolojide kullanılan nitrojen mustard türevlerinin başlıca doz sınırlayıcı toksisitesi, benzer DNA alkilleyici mekanizmaya bağlı miyelosupresyon (erken dönemde anemi ve nötropeni, daha geç trombositopeni) ile karakterizedir. Deneysel veriler, alifatik ve aromatik nitrojen mustardların akciğer tümörü indükleyici güçlü karsinojenler olduğunu; bazı aromatik türevlerin (örneğin urasil mustard, klorambusil) yüksek pulmoner tümör potansiyeline sahip bulunduğunu göstermektedir [57]. Bu, uzun dönem sekonder malignite riskine biyolojik bir temel sunar.

NM hasarında, yalnızca alkilleme değil, ROS üretimi, inflamatuvar sitokinler ve immün hücreler de önemli rol oynadığı için çeşitli farmakolojik stratejiler araştırılmaktadır. Tek doz 25-hidroksivitamin D3, dermal makrofaj kaynaklı iNOS üretimini baskılayarak lokal deri yıkımını azaltmış, doku onarımını hızlandırmış, kemik iliği depresyonunu ve ani kaşeksiyi önleyerek deney hayvanlarını NM'ye bağlı ölümden korumuştur [63]. Benzer şekilde vitamin D3, keratinositlerde SIRT3-SOD2-mitokondriyal ROS eksenini yeniden düzenleyerek NLRP3 inflamazomu inhibisyonu yoluyla NM kaynaklı kutanöz inflamasyonu anlamlı ölçüde azaltmıştır. Korneal modellerde mezenkimal kök hücre koşullu ortamı, NM'nin indüklediği mitokondriyal disfonksiyon ve ROS artışını kısmen düzelterek apoptozu azaltmış ve epitel iyileşmesini hızlandırmıştır [64]. Bu veriler bir arada değerlendirildiğinde, nitrojen mustard toksikolojisinin yalnızca DNA alkilleme ve hücre ölümüyle sınırlı olmadığı; oksidatif stres, inflamazom aktivasyonu, makrofaj alt popülasyon dinamikleri ve dokuya özgü tamir/yenilenme mekanizmalarının da toksik yanıtın şiddeti ve kronik sekel gelişiminde belirleyici olduğu anlaşılmaktadır [57,61,62,64]. Bir NM türevi olan HN2'nin moleküler etki mekanizması Tablo 2.4.'te sunulmuştur.

Tablo 2.4. Mekloretamin Hidroklorür (HN2)'nin Moleküler Etki Mekanizması

Basamak	Moleküler Olay	Açıklama / Sonuç
1	Hücreye giriş	HN2 lipofilik özellikleri sayesinde hücre zarını pasif difüzyon ile geçer.
2	Kimyasal aktivasyon	Fizyolojik pH'da kloroetil grubundan Cl^- ayrılır ve molekül içi siklizasyon gerçekleşir.
3	Aziridinyum iyonu oluşumu	Yüksek elektrofilik ve reaktif üç üyeli aziridinyum halkası oluşur; toksisitenin temel basamağıdır.
4	DNA alkilasyonu	Aziridinyum iyonu DNA bazlarının (özellikle guanin N7) nükleofilik bölgelerine bağlanır.
5	DNA çapraz bağları	HN2 bifonksiyonel olduğu için intra- ve inter-zincir DNA çapraz bağları oluşturur.
6	DNA yapısının bozulması	Replikasyon ve transkripsiyon bloke edilir; DNA hasar yanıtı (DDR) aktive olur.
7	Hücre döngüsü arresti	ATM/ATR ve p53 aktivasyonu ile hücre döngüsü genellikle G2/M fazında durur.
8	Hücresel kader	Onarım başarısızsa mitokondriyal yolak üzerinden apoptoz, yüksek hasarda nekroz gelişir.
9	İkincil toksik etkiler	ROS artışı, inflamatuar sitokin salınımı, ECM bozulması ve yara iyileşmesinde gecikme gözlenir.
10	miRNA düzenlemesi	miRNA'lar apoptoz, inflamasyon ve proliferasyon yolaklarını post-transkripsiyonel düzeyde düzenler.

2.3. DERİ FİZYOLOJİSİ, İNSAN DERMAL FİBROBLAST (HDF) VE İNSAN KERATİNOSİT (HACAT) HÜCRELERİN YARA İYİLEŞMESİNDEKİ ROLÜ-KLİNİK ÖNEMİ

Deri, insan vücudunun en büyük organı olup fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkenlere karşı ilk savunma hattını oluşturur. Aynı zamanda vücut ısısının düzenlenmesi (termoregülasyon), immün yanıtın organizasyonu, su kaybının önlenmesi ve çevresel uyarıların algılanması gibi yaşamsal fonksiyonları yerine getirir [65]. Deri anatomik olarak epidermis,

dermis ve hipodermis olmak üzere üç ana tabakadan oluşur. Epidermis ağırlıklı olarak keratinositlerden oluşur ve su kaybını engelleyen, mikroorganizma ve kimyasal ajan girişini sınırlayan bariyer fonksiyonunu sağlar [66]. Dermis ise başlıca fibroblastlar, damar yapıları ve bağ dokusu bileşenlerinden oluşur; kollajen ve diğer ekstrasellüler matriks komponentleri sayesinde deriye mekanik dayanıklılık ve esneklik kazandırır [67].

Yara iyileşmesi; inflamasyon, proliferasyon ve yeniden yapılanma (remodeling) olmak üzere birbirini izleyen ve kısmen örtüşen fazlardan oluşan karmaşık bir biyolojik süreçtir [68]. Bu süreç boyunca epidermal ve dermal hücreler arasında yoğun ve dinamik bir hücresel iletişim gerçekleşir. Dermal fibroblastlar farklı sitokin ve büyüme faktörleri salgılayarak keratinosit, endotelyal hücre ve immün hücre fonksiyonlarını modüle eder [69]. Keratinositler göç ve proliferasyon yoluyla epidermal kapanmayı ve yeniden epitelizasyonu sağlarken, fibroblastlar kollajen başta olmak üzere bağ dokusu bileşenlerinin sentezi ve yeniden düzenlenmesinden sorumlu olarak doku bütünlüğünün kazanılmasına katkıda bulunur [70]. Bu nedenle, yara iyileşmesinin doğru şekilde modellenebilmesi için hem epidermal hem de dermal hücrelerin ayrı ayrı ve birlikte değerlendirilmesi, normal onarımın anlaşılması ve patolojik fibrozis ya da kronik yaralara yönelik yeni tedavilerin geliştirilmesi açısından, klinik ve deneysel olarak büyük önem taşır [71].

2.3.1. HDF Hücreleri: Özellikleri, Yara İyileşmesindeki Rolü ve Klinik Önemi

HDF hücreleri insan dermisinden doğrudan izole edilen primer hücreler olup, bağ dokusunun ana hücresel bileşenini oluşturur [72]. Genellikle neonatal foreskin veya yetişkin deri biyopsilerinden elde edilirler ve primer hücre olmaları nedeniyle *in vivo* koşullara en yakın biyolojik davranışı sergilerler. Genetik olarak stabil olmaları, immortal hücre hatlarına kıyasla daha iyi fizyolojik yanıtlar vermelerini sağlar [73]. HDF'lerin en temel fonksiyonu ekstrasellüler matriks (ECM) sentezidir [74]. Tip I ve Tip III kollajen başta olmak üzere elastin, fibronektin ve glikozaminoglikanların üretimiyle dermal yapının mekanik dayanıklılığını ve bütünlüğünü sağlarlar. Yara iyileşmesi sürecinde fibroblastlar hasar bölgesine göç ederek proliferasyona girer ve granülasyon dokusunun temelini oluşturur. Bu aşamada ECM üretiminin artması, geçici bir doku iskelesi oluşturarak hücresel organizasyonu destekler [75].

Yara iyileşmesinin ilerleyen fazlarında HDF'lerin bir kısmı myofibroblastlara dönüşür. Bu dönüşüm, yara kontraksiyonunu ve doku kapanmasını sağlar. Ancak bu sürecin aşırı veya kontrolsüz gerçekleşmesi patolojik skar ve fibrozis gelişimine yol açabilir. Bu nedenle HDF aktivitesi hem iyileştirici hem de potansiyel olarak patolojik sonuçlar doğurabilen çift yönlü bir öneme sahiptir [76].

HDF'ler ayrıca IL-6, TGF-β ve PDGF gibi sitokin ve büyüme faktörlerini salgılayarak inflamatuvar hücreler, keratinositler ve endotel hücreleri ile yoğun bir parakrin etkileşim kurar [77]. Bu hücresel iletişim; inflamasyonun çözülmesi, epidermal yenilenmenin uyarılması ve anjiyogenez açısından kritik rol oynar . Klinik açıdan HDF'ler, kronik yaralar, diyabetik ayak ülserleri, yanıklar, fibrotik hastalıklar ve doku mühendisliği uygulamalarında hedef hücre grubu olarak büyük önem taşımaktadır [78].

2.3.2. HaCaT Hücreleri: Özellikleri, Yara İyileşmesindeki Rolü ve Klinik Önemi

HaCaT, erişkin normal insan epidermal keratinositlerinden türetilmiş, spontan immortalize olmuş, anöploid bir insan keratinosit hücre hattıdır. Uzun dönem kültürde 140'ın üzerinde pasaj yapılabilen bu hücreler, klonal kökenli olmalarına rağmen tam diferansiasyon kapasitesini büyük ölçüde korur ve nontümorijenik özellik gösterirler [79]. SV40 gibi viral onkogenler kullanılmadan, seri pasajlar sırasında kendiliğinden immortal hale gelmiş olmaları, HaCaT'yi transformasyon sonrası bile normal keratinizasyon programını sürdürebilen ilk kalıcı insan deri epitel hattı yapar; bu nedenle sınırsız bölünebilme özelliği kazanmış ancak deneysel koşullarda malignite göstermeyen bir model olarak kabul edilir . Karyotip olarak anöploid ve çok sayıda kromozomal yeniden düzenleme içermesine rağmen, stabil marker kromozomlara sahip olması ve DNA parmak izi profilinin uzun süreli kültür ve transformasyondan etkilenmemesi, bu hattın genetik stabilitesini ve doku kökeniyle uyumunu destekler; bu da uzun süreli deney serilerinde tekrar edilebilirlik ve güvenilirlik sağlar [80].

Diferansiasyon açısından HaCaT hücreleri, normal epidermisteki bazal keratinositlere benzeyen fenotip sergiler; uygun kültür koşullarında, özellikle organotipik ko-kültürlerde veya nude farelere transplantasyon sonrasında, iyi organize olmuş, çok katlı ve tabakalı bir skuamöz epitel oluşturur ve k1/k10, involucrin, filaggrin gibi terminal diferansiasyon belirteçlerini doğru

mekansal dağılımla eksprese eder . Kolajen jel içinde dermal fibroblastlarla birlikte organotipik kültürde büyütüldüğünde, bir–üç hafta içinde kalınlığı fibroblast sayısı ile korele olan, iyi yapılandırılmış, bazal proliferatif tabakaya ve suprabazal diferansiye katmanlara sahip epitel oluşturur. 2 ila 3 hafta sonunda neredeyse tam bir bazal membran, hemidesmozomlar ve anchoring fibriller gelişir ve proliferasyonun bazal tabakaya sınırlanması, parakeratotik stratum corneum'da DNA fragmantasyonunun görülmesi gibi, *in vivo* keratinizasyonun birçok ultrastrüktürel özelliği yeniden üretilir [81]. Yine de, özellikle hava–sıvı ara yüzüne maruz bırakılan bazı rekonstrükte deri eşdeğerlerinde, terminal diferansiasyonun son basamaklarının (tam olgun stratum corneum, tam serbest yağ asidi ve seramid profili, eksiksiz bariyer lipitleri vb.) eksik kaldığı, keratin 1/10 ve 6/16 gibi keratinlerin tüm katmanlara yayılabildiği ve lipit sentez kapasitesinin kısıtlı olduğu gösterilmiştir; bu da HaCaT'nin epidermisin tüm fizyolojik bariyer fonksiyonunu her koşulda tam olarak taklit edemediğini ortaya koyar [82].

Buna rağmen HaCaT, yüksek derecede korunmuş diferansiasyon potansiyeli, öngörülebilir proliferasyon dinamikleri ve standart koşullarda (örneğin yüksek glukozlu DMEM + %10 FBS, 37 °C, %5 CO_2) hızlı ve stabil büyüme göstermesi nedeniyle hem temel epidermal biyoloji hem de uygulamalı dermatoloji ve dermal toksikoloji çalışmalarında küresel ölçekte altın standart keratinosit modeli olarak kullanılır [83]. UVB/UVA radyasyonuna maruz bırakıldığında gelişen oksidatif stres, ROS üretimi, DNA hasarı, apoptoz ve inflamatuvar yanıtların incelenmesi için güvenilir bir sistem sunar; çeşitli nanopartiküllerin, metal oksitlerin ve fonksiyonelleştirilmiş nanotaşıyıcıların sitotoksisitesi, lipid peroksidasyonu ve inflamatuvar profil üzerindeki etkileri MTT, LDH, ROS ve ELISA temelli testlerle HaCaT üzerinde kapsamlı biçimde değerlendirilmiştir [84]. Benzer biçimde HaCaT, topikal ilaç taşıyıcıları, katı lipid nanopartikülleri, bitkisel bileşikler, anti-aging ajanlar veya yara iyileştirici peptitler içeren formülasyonların sitotoksisite, antioksidan etki, inflamasyon modülasyonu ve yara kapanması (scratch assay, hücre göçü ve proliferasyonu) üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalarda da yaygın şekilde tercih edilir [85].

HaCaT hücrelerinin dermatoloji ve toksikoloji alanındaki bu yaygın kullanımı, onları kozmetik bileşenlerin, kimyasal ajanların, kemoterapötiklerin, KSA benzeri alkilleyicilerin ve çevresel toksinlerin insan epidermisi üzerindeki potansiyel etkilerini önceden taramak için düşük maliyetli, tekrarlanabilir ve etik açıdan avantajlı bir model haline getirir [86]. Bununla

birlikte, anöploid karyotip, p53 mutasyonu, kısmen düzensiz keratin ekspresyonu ve eksik bariyer lipit profili gibi özellikler nedeniyle, özellikle kronik inflamatuvar hastalık modellerinde, tam epidermal bariyer fonksiyonunun, tüm hücre alt tiplerinin ve uzun süreli doku yeniden şekillenmesinin bire bir yansıtılması gerektiği durumlarda primer keratinositler veya daha kompleks 3D deri eşdeğerleri ile desteklenmesi önerilir [87]. Sonuç olarak HaCaT, insan epidermal keratinosit fizyolojisine oldukça yakın duran, spontan immortalize, diferansiasyon kapasitesi büyük oranda korunmuş ve özellikle epidermal biyoloji, dermal toksikoloji, UV hasarı, inflamasyon, yara iyileşmesi ve kozmetik araştırmalarında dünya çapında en sık kullanılan insan keratinosit hücre hattı olarak kabul edilmektedir.

2.3.3. HDF ve HaCaT Hücrelerinin Yara İyileşmesi Açısından Karşılaştırılması

HDF ve HaCaT hücreleri; proliferasyon özellikleri, stres yanıtları ve yara onarımındaki rolleri açısından belirgin biçimde farklılık göstermektedir. HaCaT hücre hattı, immortalize keratinosit yapısı nedeniyle genellikle primer HDF'lere kıyasla daha hızlı ve daha öngörülebilir proliferasyon sergiler; bu durum, metabolik ya da canlılık testlerinde (ör. CCK-8, MTT) aynı maruziyet süresinde HaCaT'ta daha erken ve daha belirgin yanıtlar görülmesine yol açabilir [88]. Nitekim 2D kültürlerde, uygun serum koşullarında HaCaT kolonilerinin birkaç gün içinde yüksek konfluensi yakaladığı, HDF'lerin ise daha migratuvar, bireysel hücre morfolojisi sergileyerek yüzeyi doldurduğu; serumdan yoksun ortamda ise her iki hücre tipinin de proliferasyonunun yavaşladığı ancak yüksek başlangıç yoğunluklarında yine de konfluente ulaşabildikleri gösterilmiştir [89]. DNA hasarı ve stres yanıtı açısından, HaCaT hattının p53'de mutasyonlar içerebilmesi, DNA-alkilleyici veya ısı stresi gibi hasar verici uyaranlara karşı apoptoz, senesens veya onarım dinamiklerinin primer HDF'lerden farklı olmasına neden olabilir. Buna karşılık HDF'ler primer, mesenkimal hücreler olarak p53 fonksiyonunu daha fizyolojik biçimde koruyup hasar sonrası daha klasik DNA onarım ve hücre döngüsü duraklama yanıtları verebilir. Isı stresi modelinde hem HaCaT hem de dermal fibroblastların, dışarıdan sağlanan trofik faktörler ile (örn. mezenkimal kök hücre kaynaklı koşullandırılmış ortam) apoptozlarının belirgin şekilde azaldığı ve proliferasyonlarının arttığı gösterilmiş olsa da fibroblastlarda apoptoz oranındaki düşüşün HaCaT'a kıyasla daha belirgin olması HDF'lerin bu tür pro-rejeneratif sinyallere farklı duyarlılığını düşündürmektedir [90].

Fenotipik düzeyde HDF'ler mezenkimal karakterli, ekstraselüler matriks sentezi, kolajen depolanması, myofibroblast dönüşümü, anjiyogenez ve granülasyon dokusu organizasyonunda merkezi rol oynayan hücrelerdir. Fibroblastların heterojen popülasyonları yara iyileşmesi sırasında inflamasyonun düzenlenmesi, büyüme faktörü salınımı, keratinosit, endotel ve immün hücre işlevlerinin parakrin olarak modülasyonu gibi çok sayıda düzenleyici fonksiyon üstlenir [91]. Buna karşılık HaCaT hücreleri epitel/keratinosit fenotipini temsil eder; re-epitelizasyon, keratin ekspresyon paternleri, bariyer oluşumu, ROS üretimi ve sitokin/kemokin yanıtları üzerinden yara yüzeyinin kapanması ve epidermal bariyerin yeniden oluşumu ile ilişkilidir. Yara iyileşmesi deneylerinde bu fark, örneğin scratch assay veya migrasyon testlerinde, HDF'lerin daha migratuvar, matriks düzenleyici ve kontraktil yanıtlar sergilemesine; HaCaT'ların ise epitel tabakanın kenarından boşluğa doğru kolektif göç ve proliferasyonla "kapanma" dinamiğini modellemesine yansır [92].

Son olarak, alkilleyici ajanlar veya nitrojen mustard gibi genotoksik kimyasallar kullanıldığında klonojenik sağkalım, DNA hasarı birikimi ve genotoksik etkilerin ortaya çıkış süresi HDF ve HaCaT'ta farklı zamanlarda ve şiddette gözlenebilir; HaCaT'ın mutasyonlu p53 zemininde daha bozulmuş bir apoptoz/onarımla ilerleyen bir süreç sergilemesi mümkünken, HDF'ler daha fizyolojik p53 aracılı hücre döngüsü kontrolü ve senesens paternleri gösterebilir, bu da LC_{50}/IC_{50} ve klonojenik end-pointlerin iki hücre tipinde farklı yorumlanmasını gerektirir [93].

2.4. TRANSKRİPTOMİK VE BİYOİNFORMATİK ÇALIŞMALAR

Transkriptomik; bir hücre veya dokuda belli bir zamanda ifade edilen tüm RNA moleküllerinin (mRNA, uzun kodlamayan RNA'lar, mikroRNA'lar, dairesel RNA'lar vb.) bütününü sistematik olarak inceleyen bilim alanıdır. Temel amaç, hangi genlerin ne düzeyde aktif olduğunu, hangi alternatif izoformların üretildiğini, hücre tipleri ve koşullar arasında gen ifade desenlerinin nasıl değiştiğini ortaya koymaktır [94]. Günümüzde transkriptomik çalışmalarının omurgasını, yüksek verimli dizileme temelli RNA-Seq yöntemleri oluşturmaktadır; RNA-Seq, klasik mikrodizilere göre çok daha geniş dinamik aralıkta ve izoform düzeyinde ifade ölçümü sağlar, önceden gen dizisi bilgisine daha az bağımlıdır ve arka plan gürültüsü daha düşüktür [95].

RNA-Seq verileri, yalnızca gen ekspresyon seviyelerini değil; alternatif kesim (splicing) olaylarını, füzyon transkriptlerini, RNA varyantlarını, RNA düzenleme olaylarını ve kodlamayan transkriptleri de ortaya çıkarabilir [96]. Geniş kapsamlı bir protokol, kısa ve uzun okuma teknolojilerini, farklı haritalama, sayım ve istatistiksel analiz araçlarını birleştirerek transkriptomdan çok boyutlu biyolojik içgörü üretmeyi hedefler. Bu amaçla geliştirilen RNACocktail gibi boru hatları, farklı adımlardaki 39 aracı yaklaşık 120 kombinasyon hâlinde karşılaştırarak hem diferansiyel gen ekspresyonu hem de klinik açıdan önemli transkriptlerin saptanmasında yüksek doğruluk sunan standart bir analiz iş akışı önermektedir [97].

Transkriptomik deneyler çok büyük veri ürettiği için bu verilerin anlamlandırılması neredeyse bütünüyle biyoinformatik yöntemlere dayanır [98]. RNA-Seq'te tipik analiz hattı; ham okuma kalitesinin kontrolü, adaptör ve düşük kaliteli bazların temizlenmesi, okuma dizilerinin referans genoma veya transkriptoma hizalanması, ifade sayım matrislerinin oluşturulması, normalizasyon ve diferansiyel ifade analizinden oluşur [99]. Kompleks ökaryotlarda ekzon-ekzon birleşimlerini tanımak, alternatif veya trans-splicing olaylarını ortaya çıkarmak, okuma hizalama algoritmaları açısından özel zorluklar doğurur; bu nedenle bilinen ve öngörülen ekzon birleşim dizilerinden oluşan "junction kütüphaneleri" kullanmak sık başvurulan bir yaklaşımdır [100].

Gelişen yöntemlerle, biyoinformatik yalnızca doğrusal mRNA'ları değil, dairesel RNA'ları (circRNA) da saptamaya yönelmiştir [101]. circRNA keşfi hem deneysel hazırlama protokollerindeki önyargılar hem de okuma haritalama hataları nedeniyle zorlayıcıdır; ligasyon ve ters transkripsiyon basamaklarındaki şablon değiştirme artefaktları yalancı "geri-splicing" olayları üretip sahte circRNA sinyallerine yol açabilir [102]. Bu nedenle circRNA tespiti için tasarlanan algoritmalarda istatistiksel filtreler, deneysel doğrulama stratejileri ve artefakt kaynaklı sinyalleri ayıklamaya yönelik biyoinformatik kontroller kritik önemdedir [103].

Tek hücreli RNA-Seq (scRNA-Seq), transkriptomik ve biyoinformatiğin kesişiminin en ileri örneklerindendir. Tek tek hücrelerden elde edilen yüzbinlerce transkriptom profilinin analizinde, ham veri işleme ve kalite kontrol adımlarını; boyut indirgeme, hücre kümeleme, hücre tipi anotasyonu, soyağacı/yalancı zaman (trajectory) çıkarımı, hücre-hücre iletişimi analizi, transkripsiyon faktörü etkinliği ve metabolik durum kestirimi gibi ileri biyoinformatik

analizler izler [97,102]. Bu amaçla geliştirilmiş yazılım ve betik depoları, özellikle biyomedikal ve klinik örneklerle çalışan araştırmacılara, adım adım komut satırı arayüzleri sunarak sürecin standardize edilmesine katkı vermektedir [104].

Geniş spektrumlu RNA-Seq ve gelişmiş biyoinformatik analizler bir araya getirildiğinde, yalnızca diferansiyel ifade eden gen listeleri değil, hastalık mekanizmaları, ilaç hedefleri, tanısal ve prognostik biyobelirteçler hakkında derin içgörüler elde edilir [105]. Örneğin bir RNA-Seq protokolünde, ifade analizi ile birlikte RNA varyant çağırma, RNA düzenleme ve füzyon belirleme yetenekleri aynı anda değerlendirilmiş; böylece transkriptomun işlevsel ve yapısal çeşitliliği bir bütün olarak ortaya konmuştur [106]. Tek hücreli çalışmalar ise, bir dokudaki heterojen hücre popülasyonlarını, hücre tipine özgü düzenleyici ağları ve transkripsiyon faktörü "regülonlarını" haritalamaya imkân tanır; ortak ifade modüllerinin ve TF-hedef ilişkilerinin hesaplanması, hücre tipine özgü düzenleyici ağların yeniden inşasını mümkün kılar [107].

Bu bütüncül yaklaşım, gen düzenlenmesi, gelişimsel hat seçimi, bağışıklık yanıtları ve kanser gibi patolojik süreçlerin çok katmanlı yapısını çözümlemede giderek daha merkezi bir rol üstlenmektedir [108,109]. Transkriptomik ve biyoinformatik kapasitedeki ilerlemeler, klinik örneklerden elde edilen verilerin tanısal/tedaviye yönelik kararlara entegre edilmesiyle, kişiselleştirilmiş tıp uygulamalarına doğru güçlü bir geçişi desteklemektedir [110,111].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

- Mekloretamin hidroklorid (CAS Number: 55-86-7) (Sigma-Aldrich)
- İnsan Dermal Fibroblast (PCS-201-012 ™) hücreleri (HDF)
- İnsan Keratinosit Hücreleri (HaCaT)
- Dulbecco'nun Modifiye Edilmiş Kartal Besiyeri (DMEM) Yüksek Glukoz (4.5 g/l) ile L-Glutamine (Cegrogen)
- Fetal sığır serumu (FBS) (Cegrogen)
- Penisilin/streptomisin (Cegrogen)
- Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)
- Resazurin (Sigma-Aldrich)
- Fosfat tamponlu salin (PBS) (Cegrogen)
- Tripan mavisi solüsyonu (Sigma)
- Tripsin/EDTA (Cegrogen)
- Dimetilsülfoksit (DMSO) (Applichem)
- Magen R413002 Evrensel RNA Saflaştırma Kiti (Magen Biotechnology)

3.2. KULLANILAN CİHAZLAR VE SARF MALZEMELERİ

- Otomatik pipetler, cam tüpler, eppendorf tüpleri vb.
- CO_2'li İnkübatör (Thermo Forma)
- Hassas terazi (Shimadzu)
- Vorteks (Thermolyne)
- Santrifüj (Nüve-Centrifuge)
- Biyogüvenlik Kabini (2. seviye) (Thermo (Smf 2))
- +4 °C Buzdolabı (Arçelik)
- -80 °C Buzdolabı (Nüve Ultra Low)
- Inverted Mikroskop (Leica DMIRB)
- 96 kuyucuklu well plate
- 25 cm^2 Hücre Kültür Flaskı, Vent Cap, TC, Sterile
- Serolojik pipetler (5 mL, tek kullanımlık) (Biofil)

- Serolojik pipetler (10 mL, tek kullanımlık) (Biofil)
- 15 mL Santrifüj tüpü kapaklı (Biofil)
- 50 mL Santrifüj tüpü kapaklı (Biofil)
- Dondurma tüpleri (Cryogenic Vial)
- Pipet Ucu 1-200 µL
- Pipet Ucu 100-1000 µL
- Lam ve Lamel (Isotherm)
- Mikroplate Okuyucu (Varioskan Lux)

3.3. TEST İÇİN HÜCRELERİN VE DENEYİN HAZIRLANMASI

3.3.1. Hücrelerin Çoğaltılması ve Hücre Kültürü Numunelerin Hazırlanması

HDF (İnsan Dermal Fibroblast; Normal, Human ATCC, PCS-201-012) ve HaCaT (İnsan keratinosit) hücre hatları, %20 fetal sığır serumu (FBS) ve %1 penisilin/streptomisin, %0,2 Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF) ile takviye edilmiş DMEM (yüksek glukoz) içinde kültive edildi. Hücre hatları, %5 CO_2 ve 37° C sıcaklıklarda inkübe edildi. Elde edilen hücre süspansiyonundan 25 cm²'lik flasklara ekim yapılmış, 37°C'de %5 CO_2 içeren steril bir ortamda inkübasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Süreç içerisinde hücrelerin membran bütünlüğü ve yoğunluğu mikroskop altında değerlendirilmiş, flaskların doluluk oranı %60-70 aralığına ulaştığında medyum ortamı yenilenmiştir. Hücreler %80-90 yoğunluğa ulaştığında ise 1 mL PBS eklenerek hücreler yıkanmış, devamında PBS ortamdan uzaklaştırılırmış, hücrelerin yüzeyden ayrılması için ortama 1 mL %0,05 tripsin-EDTA eklenerek 37°C'de 2-3 dakika (dk) inkübatörde bekletilmiştir. Tripsin-EDTA'yı nötralize etmek için ise flaska 6 mL DMEM ilave edilerek hücreler steril bir falkon tüpe aktarılmıştır. Tekrarlayan pasajlama için hücreler 1000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek süpernatantı uzaklaştırılmış, kalan hücre pelleti uygun hacimde besiyeri ile süspanse edilerek 75 cm²'lik flasklara pasajlanarak inkübatöre kaldırılmıştır.

Hücrelerin pasajlanma sürecine paralel olarak canlı hücre sayımı yapılmıştır. Bu maksatla santrifüj sonrası elde edilen hücre peleti 1 mL DMEM ile süspanse edilmiş, bu süspansiyondan 10 µL alınarak 10 µL trypan blue (1:1 dilüsyon oranında) ile karıştırılmış, 3-5 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve buradan 1 µL hücre süspansiyonu Thoma lamına yüklenerek hücreler mikroskop altında sayılmıştır.

Hücre hesaplama formülü şu şekildedir: mL başına Hücre Sayısı = Sayılan Hücre x Dilüsyon Faktörü (Trypan blue) x 10^4 (Thoma Lamının Hacmi)

Elde edilen hücre süspansiyonu, kültür flasklarına ekilmiş ve 37°C sıcaklıkta %5 CO_2 içeren steril bir inkübatör ortamında inkübe edilmiştir. İnkübasyon süreci boyunca, hücrelerin membran bütünlüğü ve yoğunluğu mikroskop altında düzenli olarak değerlendirilmiş olup, flasklardaki doluluk oranı %60-70 seviyesine ulaştığında kültür medyumu yenilenmiştir. Hücreler %80-90 konfluens seviyesine eriştiğinde, flasklara 1 mL PBS ilave edilerek hücreler yıkanmış, ardından PBS ortamdan aspire edilmiştir. Hücrelerin flask yüzeyinden ayrılması amacıyla, ortama %0,05 tripsin-EDTA çözeltisi eklenerek 37°C'de 10 dk süreyle inkübatörde bekletilmiştir. Tripsin-EDTA enziminin nötralizasyonu için flasklara DMEM ilave edilmiş ve hücreler steril bir Falcon tüpe aktarılmıştır. Ardışık pasajlama işlemi için hücreler 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiş, supernatant aspire edilerek uzaklaştırılmış ve kalan hücre pelleti uygun hacimde besi ortamı ile süspanse edilerek pasajlanmış ve inkübatöre yerleştirilmiştir.

Hücre pasajlama sürecine paralel olarak, canlı hücre sayımı gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, santrifüj sonrası elde edilen hücre pelleti 1 mL DMEM ile süspanse edilmiş, bu süspansiyondan alınarak eşit hacimde trypan blue boyası ile 1:1 oranında dilüe edilmiş ve 3 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Ardından, hücre süspansiyonu Thoma sayım lamına yüklenerek hücreler mikroskop altında sayılmıştır. Hücre sayısı hesaplama formülü şu şekildedir: mL başına hücre sayısı = Sayılan hücre sayısı × Dilüsyon faktörü (Trypan blue) × 10^4 (Thoma lamının hacim faktörü).

3.3.2. Hücre Canlılığının Belirlenmesi – Ajanların Uygulanması

Mekloretamin hidroklorid (HN2), ana stok çözeltisi 1 mM olacak şekilde enjeksiyonluk su içinde hazırlanmış ve çalışma sırasında medya ile seyreltilerek hücreler üzerinde çalışılmıştır. Kontrol olarak medya kullanılmıştır. Hücreler (her biri $10x10^4$) 96 kuyucuklu plakalara ekilmiştir. Farklı dozlardaki (200, 500, 1000, 2500 µM) HN2, 30 ve 60 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda HN2 içeren ortam aspire edilerek atılmış ve her kuyucuğa 100 µL resazurin çözeltisi (son konsantrasyon 10 µg/mL) ilave edilmiştir. Plakalar 37°C'de 2, 3 ve 4 saat daha inkübe edilmiştir. Metabolik aktivite, Variskan Lux multimod spektrofotometre

(Thermo Scientific) kullanılarak uyarım 560 nm/ emisyon 590 nm dalga boylarında floresans yoğunluğu ölçülerek belirlenmiştir. Hücre canlılığı yüzdesi aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$\text{Canlılık (\%)} = [(Tx - Tz) / (C - Tz)] \times 100$$

Burada; C: HN2 içermeyen kontrol grubunun floresans değeri, Tx: ilgili HN2 konsantrasyonunda ve inkübasyon süresinde ölçülen floresans değeri, Tz: deney başlangıcında (HN2 eklenmeden hemen önceki) zaman noktasında ölçülen arka plan floresans değeridir (sıfır zaman kontrolü).

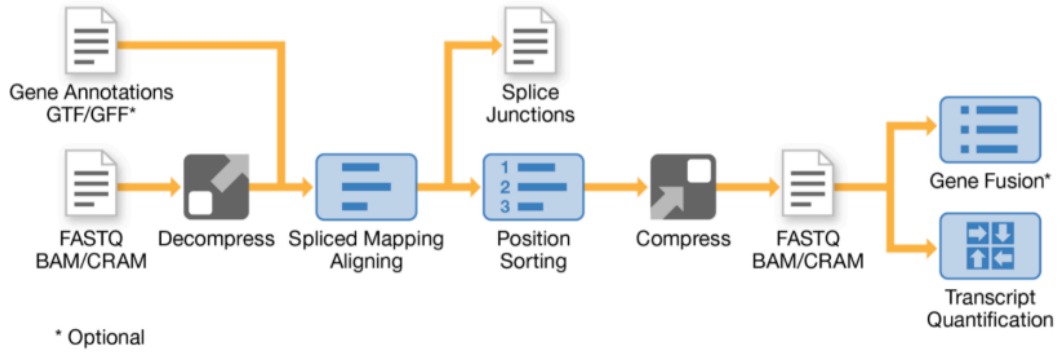
3.4. TOTAL RNA İZOLASYONU

Toplam RNA izolasyonu, Magen R413002 Evrensel RNA Saflaştırma Kiti (Magen Biotechnology, Çin) kullanılarak üretici talimatlarına göre gerçekleştirildi. Kontrol (HN2 ile muamele edilmemiş) ve IC_{50} doz HN2 ile muamele edilmiş 1×10^6 HDF ve HaCaT hücreleri 1 mL MagZol reaktifi içinde tamamen homojenize edildi ve 5 dk oda sıcaklığında inkübe edilerek hücre lizisi ve RNaz inhibisyonu sağlandı. Homojenata 200 µL kloroform ilave edildi, 15 saniye vortekslendi, 5 dk bekletildikten sonra 4°C'de 12000 × g'de 15 dk santrifüj edildi. Üst sulu faz dikkatle yeni bir tüpe alındı ve eşit hacimde %70 etanol ile karıştırıldı. Karışım, kit ile sağlanan HiPure RNA Mini Kolona aktarıldı ve 8 000 × g'de 60 saniye santrifüj edilerek RNA silika membrana bağlandı. Kolon sırasıyla 700 µL Buffer RW1 ve iki kez 500 µL Buffer RW2 ile yıkandı, ardından 12 000 × g'de 2 dk kurutma spini uygulandı. Son olarak, membran üzerine doğrudan 50–100 µL RNase-free su eklendi, 1 dk bekletildikten sonra 8000 × g'de 1 dk santrifüj edilerek saf toplam RNA elde edildi. İzole edilen RNA'lar –80°C'de saklandı ve analiz öncesi tekrar kalite kontrolünden geçirildi.

3.5. BİYOİNFORMATİK ANALİZLER

Dizileme işlemi sonrasında elde edilen okuma verilerinin kalite kontrolü, FASTQC aracı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kalite kontrol sonuçları çerçevesinde, her bir örneğe ait veri hacmi, okuma kalitesi, GC içerik dağılımı, k-mer dağılımları ve potansiyel adaptör kontaminasyonları detaylı bir şekilde değerlendirilmiştir. Dizileme sürecinde oluşan ham

okuma verilerindeki düşük kaliteli baz çağrıları ile olası adaptör ve indeks kontaminasyonlarının, sonraki analiz aşamalarında yanlışlıklara yol açmasını önlemek amacıyla, bu unsurlar okumalardan kırpılmıştır. Kalite değerlerine dayalı kırpma işlemleri için Trimmomatic (v0.39) aracı tercih edilmiştir [112]. Kırpma işleminin ardından kalan diziler, Illumina DRAGEN Bio-IT platformu ve RNA Pipeline iş akışı aracılığıyla analiz edilmiştir. Genel analiz süreci ve aşamaları Şekil 3.1'de sunulmuştur. Bu analiz kapsamında, okumalar splice-aware hizalama yöntemiyle seçilen referans genoma eşleştirilmiştir. Referans genom olarak, ilgili organizmanın güncel versiyonu (Homo sapiens GRCh38.p13) kullanılmıştır. Hizalama sonrasında anotasyon için, gen, ekzon ve transkript bilgilerini içeren GENCODE v40 veri seti temel alınmıştır. Bu işlem neticesinde, her bir transkript üzerindeki okuma sayıları hesaplanmış ve transkript uzunluğuna göre normalize edilerek RPK (Reads Per Kilobase) değerleri elde edilmiştir. Bu değerler, toplam okuma sayısına göre tekrar normalize edilerek TPM (Transcripts Per Million) değerlerine dönüştürülmüştür. Normalizasyon sonrasında, gruplar arası farklı ekspresyon gösteren genleri (Differentially Expressed Genes) belirlemek amacıyla edgeR R paketi [113] ve Quasi-Likelihood modeli uygulanmıştır. Gen ontoloji analizlerinde TopGO paketi [114] ile Kolmogorov-Smirnov (KS) istatistiksel testi kullanılmıştır. Yolak analizleri ise clusterProfiler paketi [115] ile yürütülmüştür. Grup içi ve gruplar arası istatistiksel karşılaştırmaların düzenlenmesi, veri görselleştirme işlemleri ve raporlama aşamalarında R betikleri tercih edilmiştir.



Şekil 3.1. RNA-seq veri işleme akışı. Gen anotasyonları (GTF/GFF) ve FASTQ dosyalarından başlayarak dekompresyon, spliced haritalama ve hizalama, pozisyon sıralama, kompresyon adımlarını içeren pipeline; splice junction'lar ile entegrasyon ve opsiyonel gen füzyonu tespiti ile transkript quantifikasyonu.

3.6. VERİ İŞLEME

3.6.1. Örnek Grupları

Çalışma kapsamında, dört farklı grupta yer alan dört numunenin RNA dizilemesi gerçekleştirilmiştir. Tablo 3.1.'de, ilgili numunelerin adları, deney grupları, dizileme sonucunda elde edilen okuma sayıları ve bu okumaların genoma hizalanma oranları belirtilmiştir. "Toplam" sütunu, numuneden elde edilen toplam okuma sayısını; "Hizalanan" sütunu, genoma hizalanan okumaların sayısını; "Hizalama Oranı" sütunu, genoma hizalanan okumaların yüzdesini; "Hizalanmayan" sütunu, genoma hizalanamayan okumaların sayısını; "Q30 Kalite Oranı" sütunu ise Phred kalite skoru Q30 ve üzeri olan okumaların oranını ifade etmektedir.

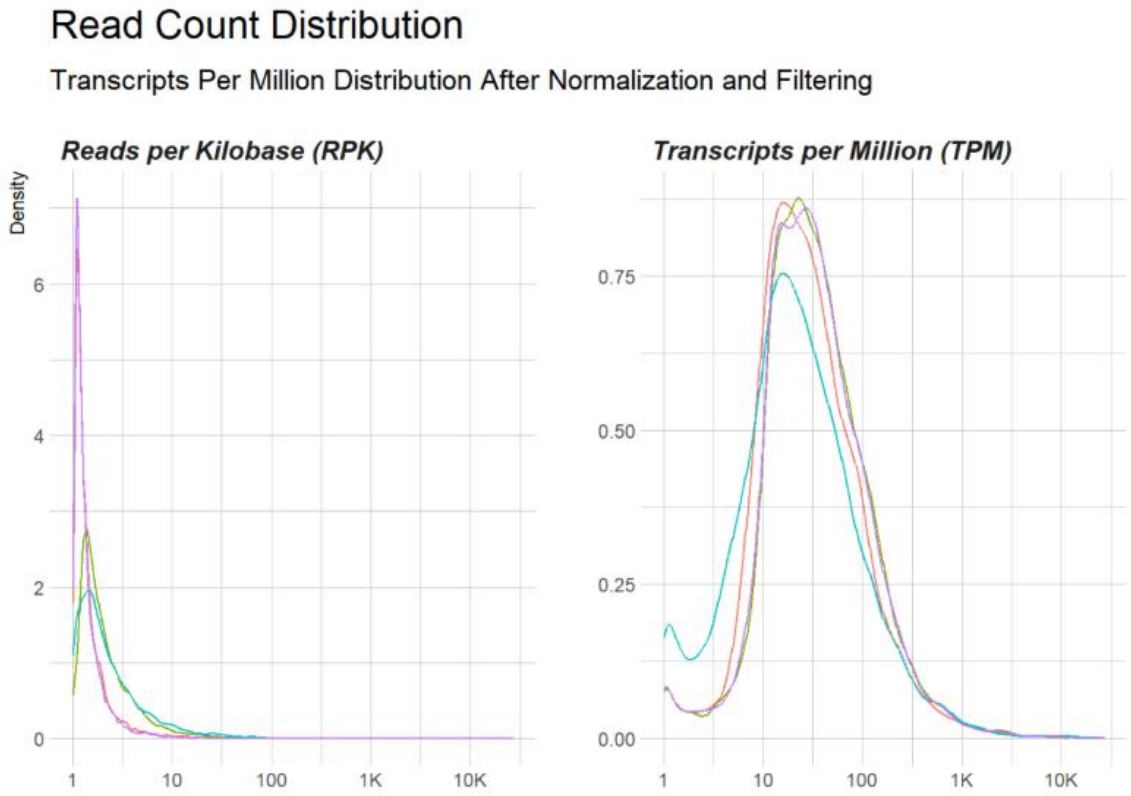
Tablo 3.1. Çalışılan numunelere ilişkin grup bilgileri, okuma sayıları ve hizalama değerleri

	Toplam	Hizalanan	Hizalanmayan	Q30 Kalite Oranı	Hizalama Oranı
HACAT-DRUG					
HACAT-DRUG	26.457.114	25.207.885	1.249.229	94.99%	95.28%
HACAT-KONTROL					
HACAT-KONTROL	73.293.372	71.506.248	1.787.124	94.39%	97.56%
HDF-DRUG					
HDF-DRUG	143.963.248	110.481.862	33.481.386	92.63%	76.74%
HDF-KONTROL					
HDF-KONTROL	22.060.382	21.678.770	381.612	95.10%	98.27%

3.6.2. Filtreleme ve Normalizasyon

Genom hizalama sonrasında, her bir transkriptom bileşenine (gen veya ekzon) düşen okuma sayıları hesaplanmıştır. Bu veri seti, ekspresyon gösteren ve göstermeyen genlerin bir karışımını içermekte olup, bazı genler numunelerin çoğunda düşük ekspresyon seviyelerine

sahip olabilir veya hiç ekspresyon göstermeyebilir. İleri analizleri etkilememesi amacıyla, bu tür veriler veri setinden elenmiştir. Ayrıca, numune hazırlama veya dizileme süreçlerinde numuneyle doğrudan biyolojik bağlantısı olmayan dış etkenler, tespit edilen ekspresyon değerlerini etkileyebilmektedir. Örneğin, bir deneyin ilk partisinde işlenen numuneler, ikinci partiye kıyasla toplam okuma sayısında daha yüksek değerlere sahip olabilir. Analizlerde, tüm numunelerin benzer ekspresyon aralıkları ve dağılımlarına sahip olması varsayımı geçerlidir. Şekil 3.2.'de, ham verilerdeki ve normalize edilmiş verilerdeki TPM (Transcripts Per Million) dağılımları gösterilmiştir. Her bir çizgi, bir numunedeki gen ekspresyon dağılımlarını temsil etmektedir. Takip eden analizler, normalize edilmiş veriler üzerinde yürütülmüştür.



Şekil 3.2. Ham ve normalize edilmiş verilerdeki tüm transkriptlerin TPM (Transcripts Per Million) dağılımları

3.6.3. Yolak ve miRNA Analizi

HN2 uygulanmış ve uygulanmamış gruplar arasında ifadesi artmış ve azalmış genlerin rol aldığı yolak analizi yapılırken ShinyGO (v 0.85) kullanılmıştır. Genler biyolojik süreç,

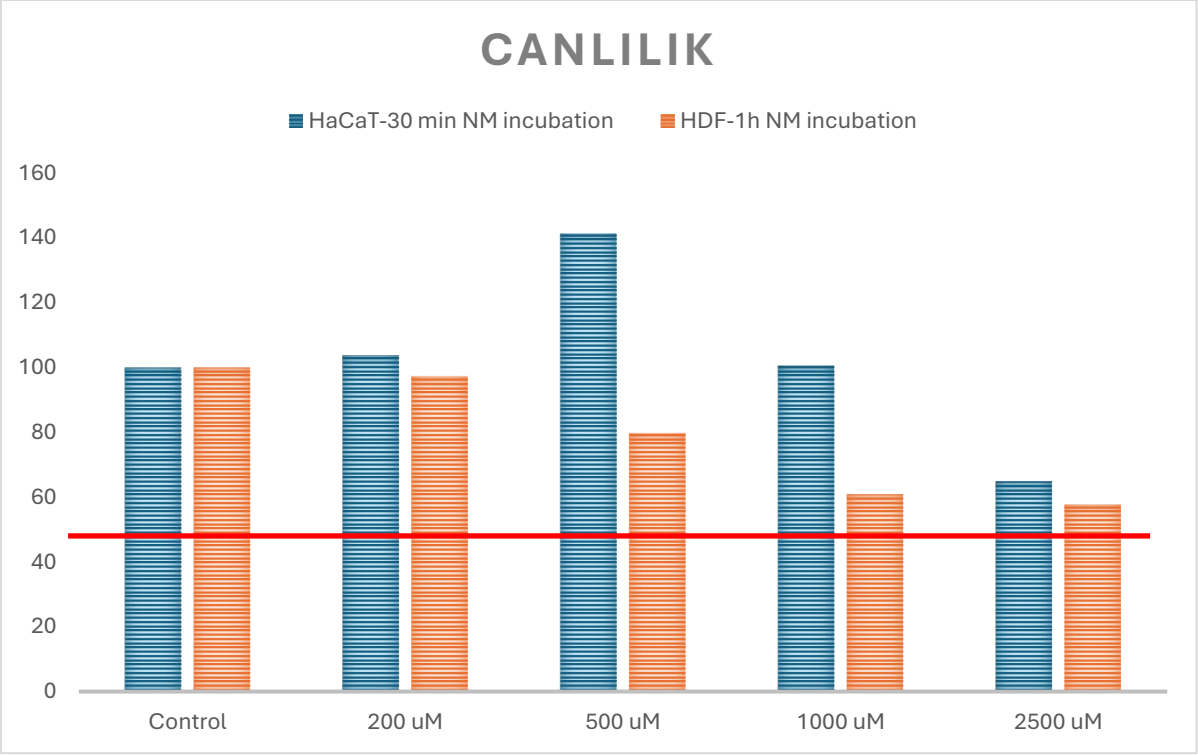
hücresel komponent ve moleküler fonksiyon açısından ShinyGO (v0.61) kullanılarak analizlenmiştir. Kyoto Genler ve Genler Ansiklopedisi (KEGG) yolak analizi 'En iyi eşleşen tür' olarak insan, 'P değeri kesme (FDR)' olarak 0.05 ve 'yolak sayısı' olarak 20 parametreleri kullanılmıştır.

Bu çalışmada, gen ifade düzenlemelerini ve gen-gen etkileşim ağlarını sistematik bir şekilde haritalamak amacıyla, güçlü bir biyoinformatik platformu olan MIRNET (https://www.mirnet.ca) kullanılmıştır. Analizler, platformun kapsamlı gen ifade veri tabanlarına dayanarak, Homo sapiens (İnsan) türüne ait gen kimlikleri (Human Gene ID) kullanılarak ve doku spesifisitesi göz önünde bulundurularak "skin" (cilt) dokusu parametresi seçilerek yürütülmüştür. Yapılan sorgulama, ilgili doku bağlamında eksprese olan genlerin kapsamlı bir listesini elde etmek için kapsamı sınırlandırılmadan tüm gen grupları dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. HÜCRE CANLILIĞI

Çeşitli konsantrasyonlarda NM ile muamele edilmiş HDF ve HaCaT hücre hatlarına karşı canlılık aktivitesi, resazurin reaktifi kullanılarak ölçüldü. 2-4 saatlik inkübasyon sonrasında HDF ve HaCaT hücre hatları için IC_{50} konsantrasyonları 2500 µM olarak hesaplandı. HaCaT hücre hattında, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 1 saatte hücre canlılığını önemli ölçüde azaltmadı, çalışmalarda HN2 inkübasyonu HaCaT hücre hattında 30 dk, HDF hücre hattında 60 dk olarak belirlendi (Şekil 4.1.).



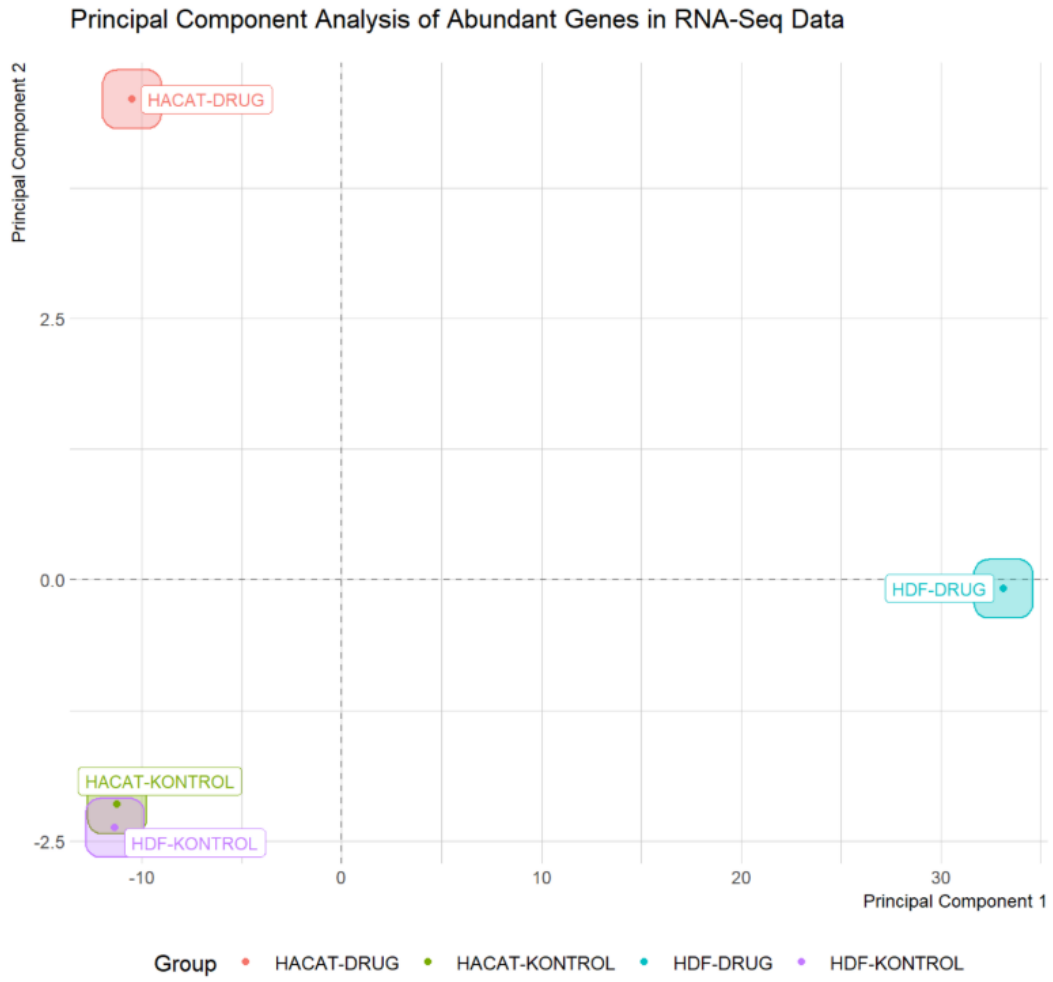
Şekil 4.1. HaCaT ve HDF hücre hatlarında hücre canlılığı

4.2. BİYOİNFORMATİK ANALİZLER

4.2.1. Kümeleme

Numuneler arasında gen ekspresyon analizine yönelik profil benzerliklerin en iyi anlaşılmasını sağlayan yaklaşımlardan biri, çok boyutlu ölçekleme (Multidimensional scaling,

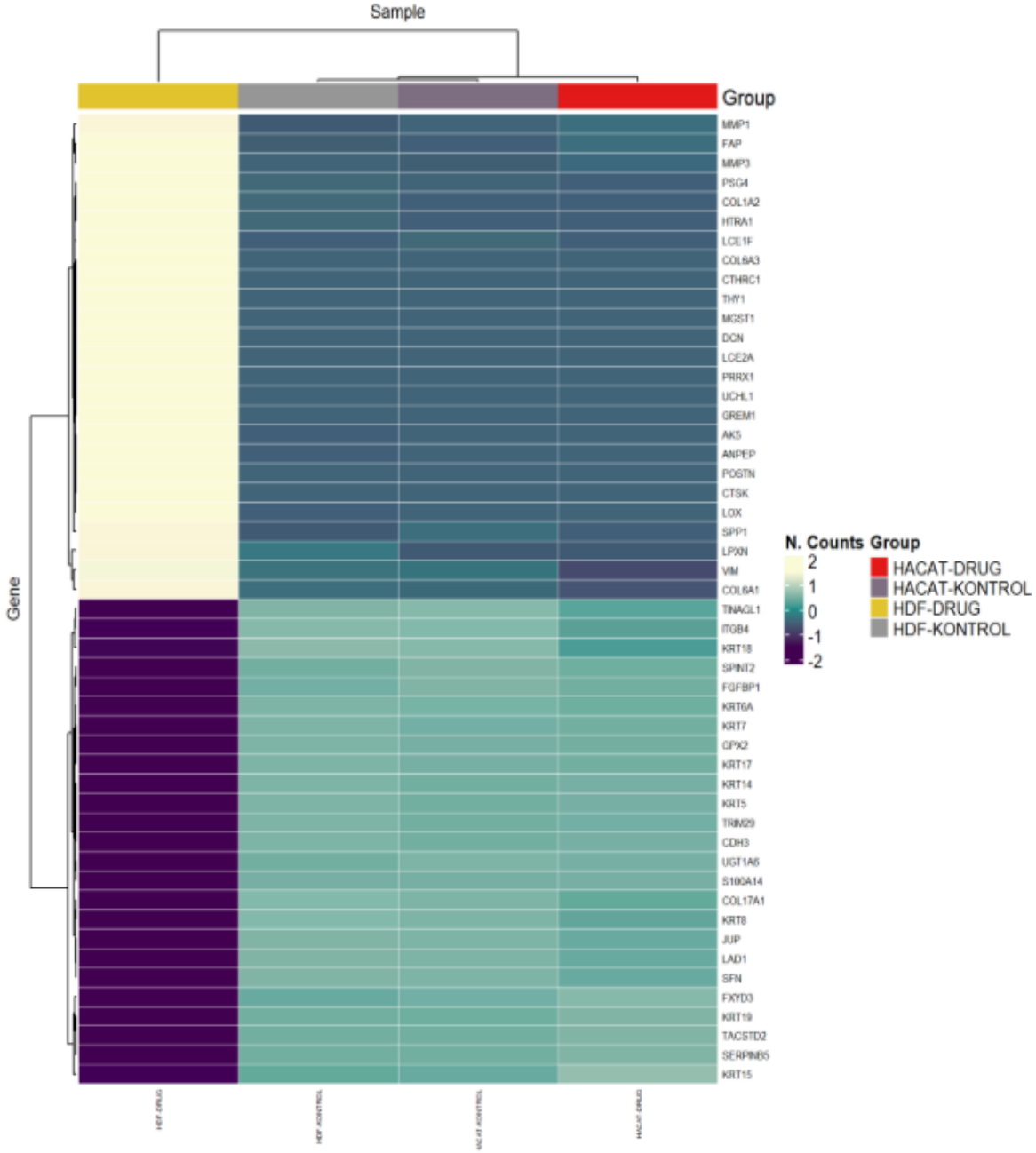
MDS) veya temel bileşen analizi (Principal Component Analysis, PCA) grafiğidir. Bu görselleştirme yaklaşımları, numuneler arasında önbilgi olmadan (unsupervised analysis) benzerlikler ve farklılıkların görselleştirilmesini sağlar. Böylece ileri analizler gerçekleştirilmeden önce diferansiyel ekspresyonun ne ölçüde tespit edilebileceği hakkında fikir sahibi olabilir. Şekil 4.2.'de analiz edilen örneklerde en fazla varyasyon gösteren ilk 500 gen dikkate alındığında PCA sonrası PC1 ve PC2 düzlemindeki örneklerin dağılımları görülmektedir.



Şekil 4.2. Örneklerin PCA sonrası PC1 ve PC2 düzlemindeki dağılımları

Aşağıda yer alan Şekil 4.3.'teki ısı grafiği (heatmap), örnekler arasında en fazla varyasyon gösteren ilk 50 genin ekspresyon profillerini göstermektedir. Isı grafiğinde yer alan örnek ve genler, profil benzerliklerine göre de her iki eksende kümelenmiş ve benzerlikler dendrogramlar ile görselleştirilmiştir. Isı grafiğinde, sadece protein kodlayan genler dahil

edilmiştir. Isı grafiğinde yer alan genlerin tamamı istatistiksel açıdan anlamlı farklılık göstermiyor olmayabilir.

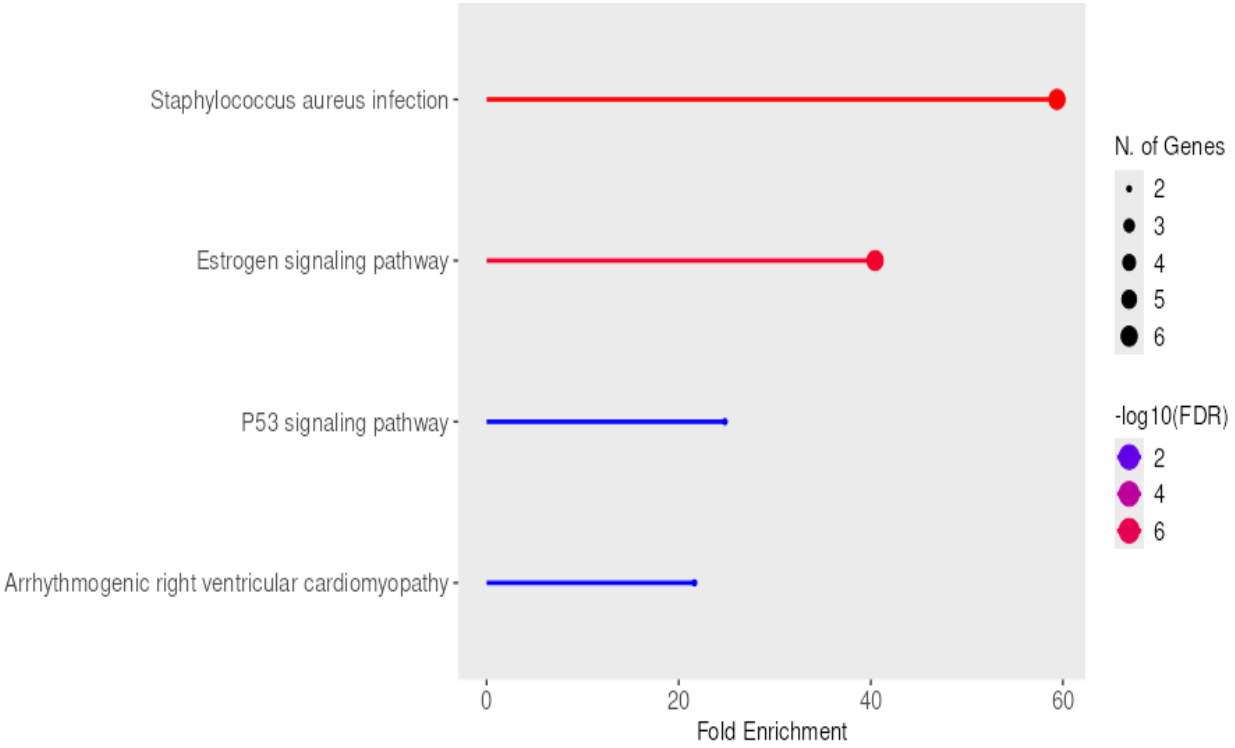


Şekil 4.3. Örnekler arasında en fazla varyasyon gösteren ilk 50 genin (MMP1, FAP, MMP3, PSG4, COL1A2, HTRA1, LCE1F, COL6A3, CTHRC1, THY1, MGST1, DCN, LCE2A, PRRX1, UCHL1, GREM1, AK5, ANPEP, POSTN, CTSK, LOX, SPP1, LPXN, VIM, COL6A1, TINAGL1, ITGB4, KRT18, SPINT2, FGFBP1, KRT6A, KRT7, GPX2, KRT17, KRT14, KRT5, TRIM29, CDH3, UGT1A6, S100A14, COL17A1, KRT8, JUP, LAD1, SFN, FXYD3, KRT19, TACSTD2, SERPINB5, KRT15) ekspresyon profili.

4.2.2. Yolak Analizi

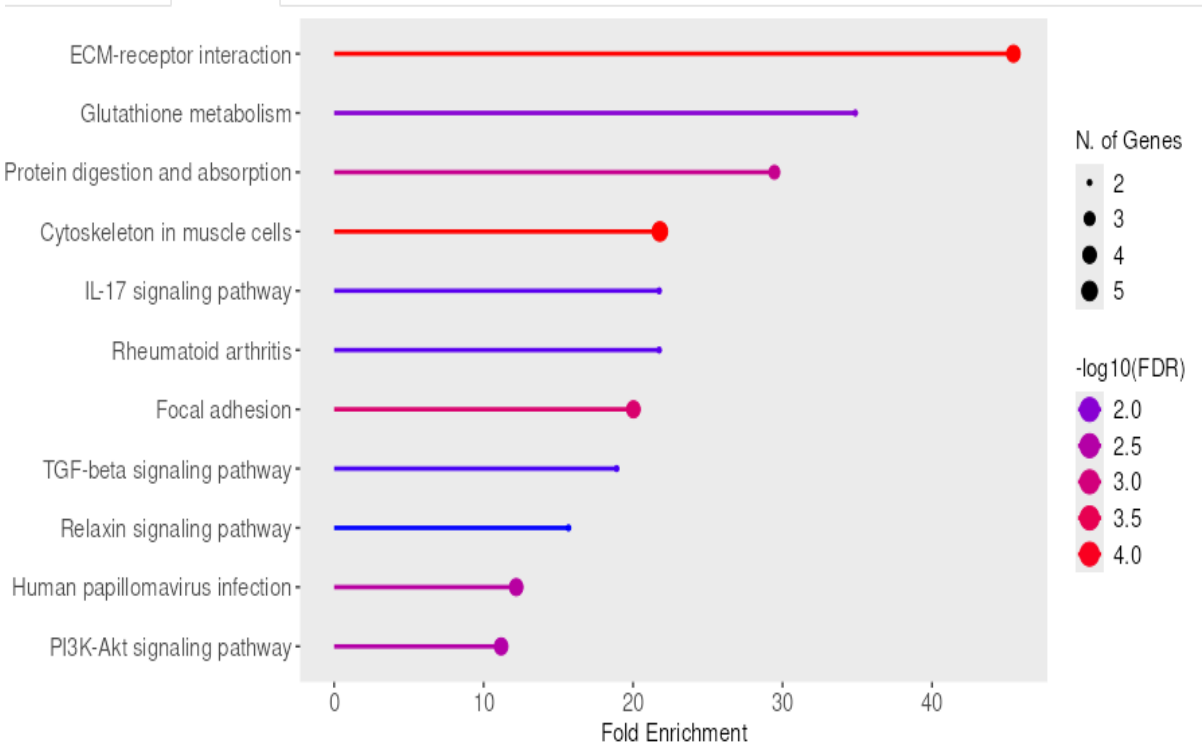
Grup 1' de (HDF-kimyasal uygulanmış) artmış ve azalmış genlerin yolak analizi sonuçları Şekil 4.4. ve 4.5.'te verilmiştir:

Azalmış genler şunlardır; TINAGL1, ITGB4, KRT18, SPINT2, FGFBP1, KRT8, KRT7, GPX2, KRT17, KRT14, KRT5, TRIM29, CDH3, UGT1A6, S100A14, COL17A1, KRT8, JUP, LAD1, SFN, KRT13, PCSK6, KRT19, TACSTD2, SERPINB5, KRT15. En çok etkilenen yolaklar ise Staphylococcus aureus enfeksiyonu ve östrojen sinyal yolağıdır.



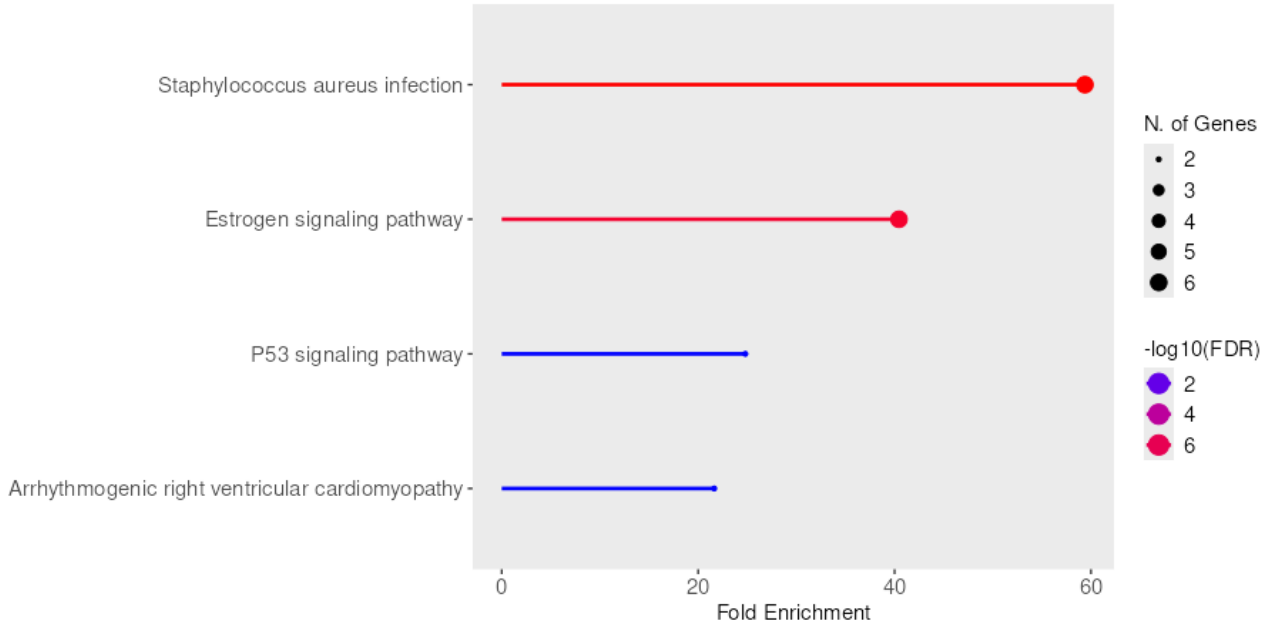
Şekil 4.4. HDF hücrelerine kimyasal uygulanmasının ardından azalmış genlerde seçili yolakların kat zenginleşmesi

Artmış genler şunlardır; MMP1, FAP, MMP3, PSG4, COL1A2, HTRA1, LCE1F, COL6A3, CTHRC1, THY1, MGST1, DCN, LCE2A, PRRX1, UCHL1, GREM1, AK5, ANPEP, POSTN, SPP1, LPXN, VIM, COL6A1. En çok etkilenmiş üç yolak ise; ECM reseptör etkileşimi, glutatyon metabolizması ve protein sindirimi-absorpsiyon yolaklarıdır.



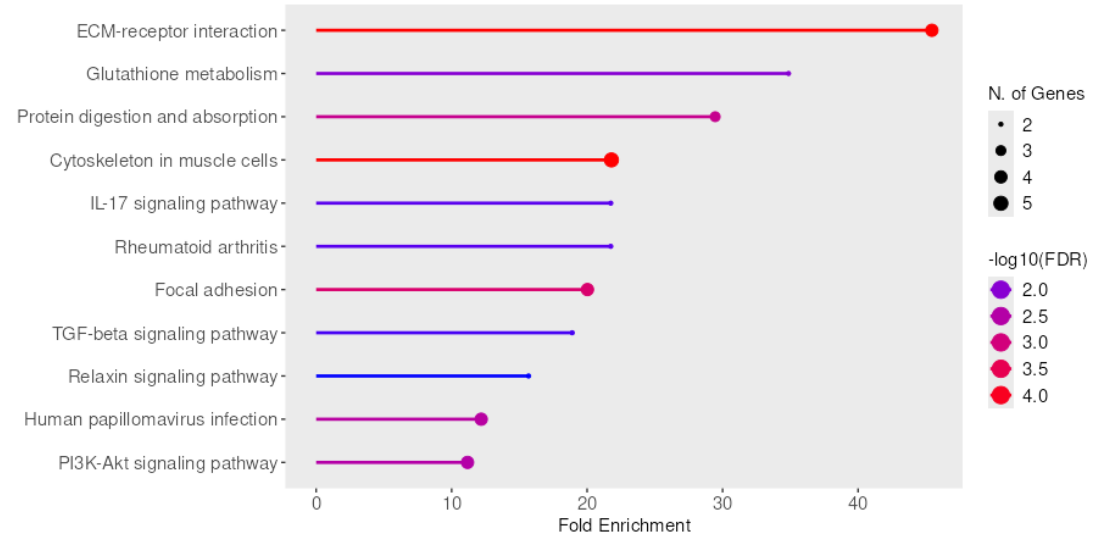
Şekil 4.5. HDF hücrelerine kimyasal uygulanmasının ardından artmış genlerde seçili yolakların kat zenginleşmesi

Grup 2 (HDF-kontrol)'de artmış ve azalmış genlerin yolak analizi sonuçları Şekil 4.6. ve 4.7.'de verilmiştir. Artmış genler şunlardır; TINAGL1, ITGB4, KRT18, SPINT2, FGFBP1, KRT8, KRT7, GPX2, KRT17, KRT14, KRT5, TRIM29, CDH3, UGT1A6, S100A14, COL17A1, KRT8, JUP, LAD1, SFN, KRT13, PCSK6, KRT19, TACSTD2, SERPINB5, KRT15. En çok etkilenen yolaklar ise Staphylococcus aureus enfeksiyonu ve östrojen sinyal yolağıdır.



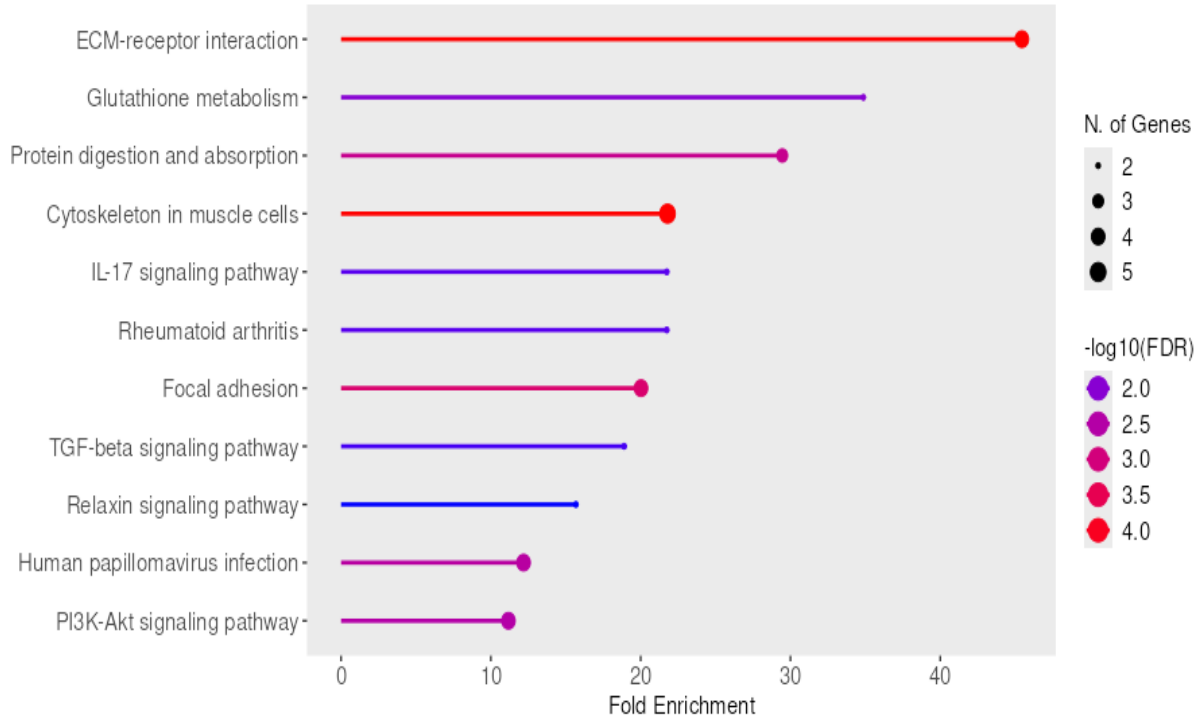
Şekil 4.6. HDF hücrelerine kimyasal uygulanmadan artmış genlerde seçili yolakların kat zenginleşmesi

Azalmış genler şunlardır; MMP1, FAP, MMP3, PSG4, COL1A2, HTRA1, LCE1F, COL6A3, CTHRC1, THY1, MGST1, DCN, LCE2A, PRRX1, UCHL1, GREM1, AK5, ANPEP, POSTN, SPP1, LPXN, VIM, COL6A1. En çok etkilenmiş üç yolak ise; ECM reseptör etkileşimi, glutatyon metabolizması ve protein sindirimi-absorpsiyon yolaklarıdır.



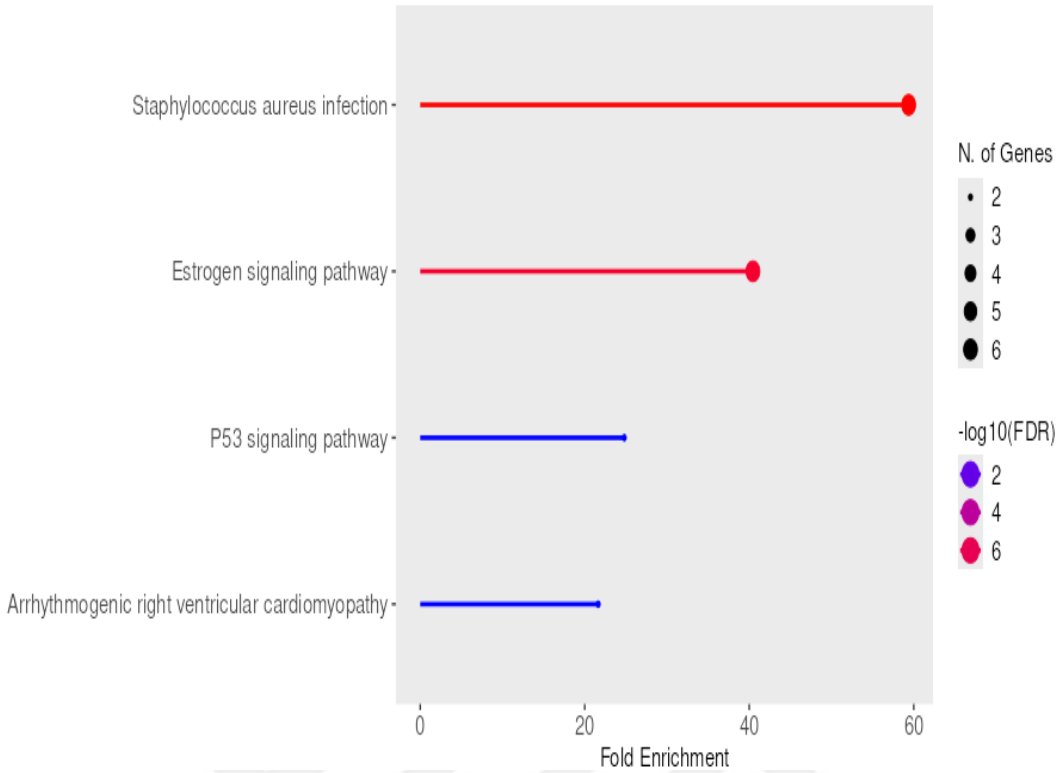
Şekil 4.7. HDF hücrelerine kimyasal uygulanmadan azalmış genlerde seçili yolakların kat zenginleşmesi

Grup 3 (HaCaT-kontrol)'teki artmış ve azalmış genlerin yolak analizi sonuçları Şekil 4.8. ve 4.9.'de verilmiştir. Azalmış genler şunlardır; MMP1, FAP, MMP3, PSG4, COL1A2, HTRA1, LCE1F, COL6A3, CTHRC1, THY1, MGST1, DCN, LCE2A, PRRX1, UCHL1, GREM1, AK5, ANPEP, POSTN, SPP1, LPXN, VIM, COL6A1. En çok etkilenmiş üç yolak ise; ECM reseptör etkileşimi, glutatyon metabolizması ve protein sindirimi-absorpsiyon yolaklarıdır.



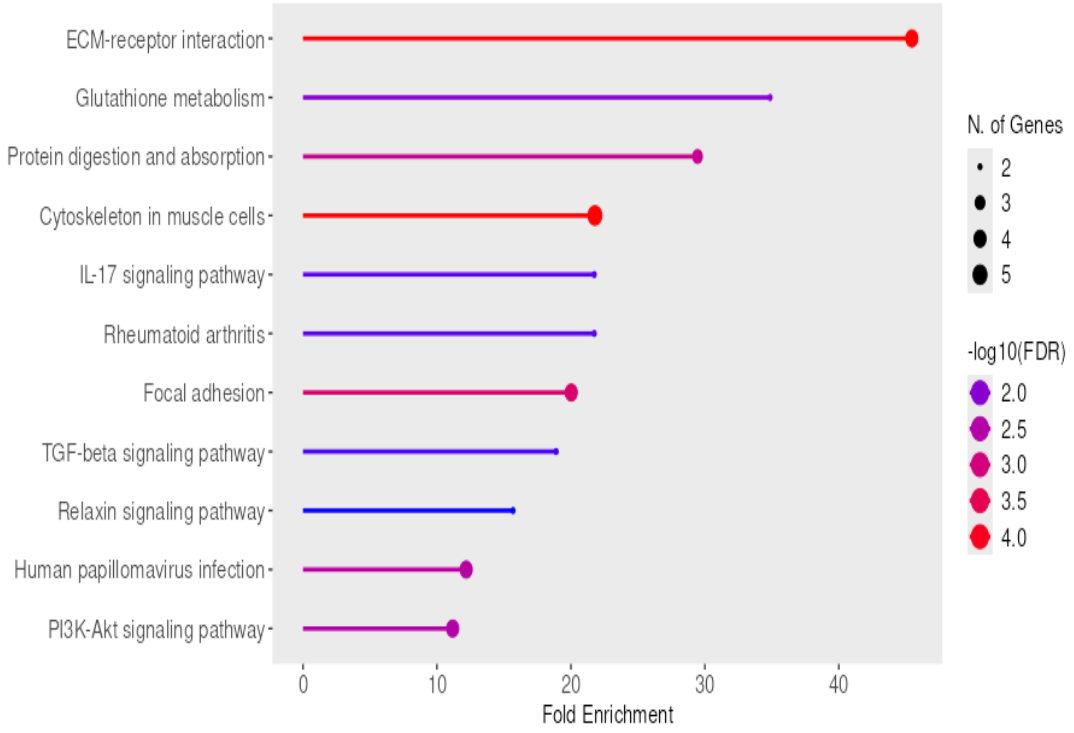
Şekil 4.8. HaCaT hücrelerine kimyasal uygulanmadan azalmış genlerde seçili yolakların kat zenginleşmesi

Artmış genler şunlardır; TINAGL1, ITGB4, KRT18, SPINT2, FGFBP1, KRT8, KRT7, GPX2, KRT17, KRT14, KRT5, TRIM29, CDH3, UGT1A6, S100A14, COL17A1, KRT8, JUP, LAD1, SFN, KRT13, PCSK6, KRT19, TACSTD2, SERPINB5, KRT15. En çok etkilenen yolaklar ise Staphylococcus aureus enfeksiyonu ve östrojen sinyal yolağıdır.



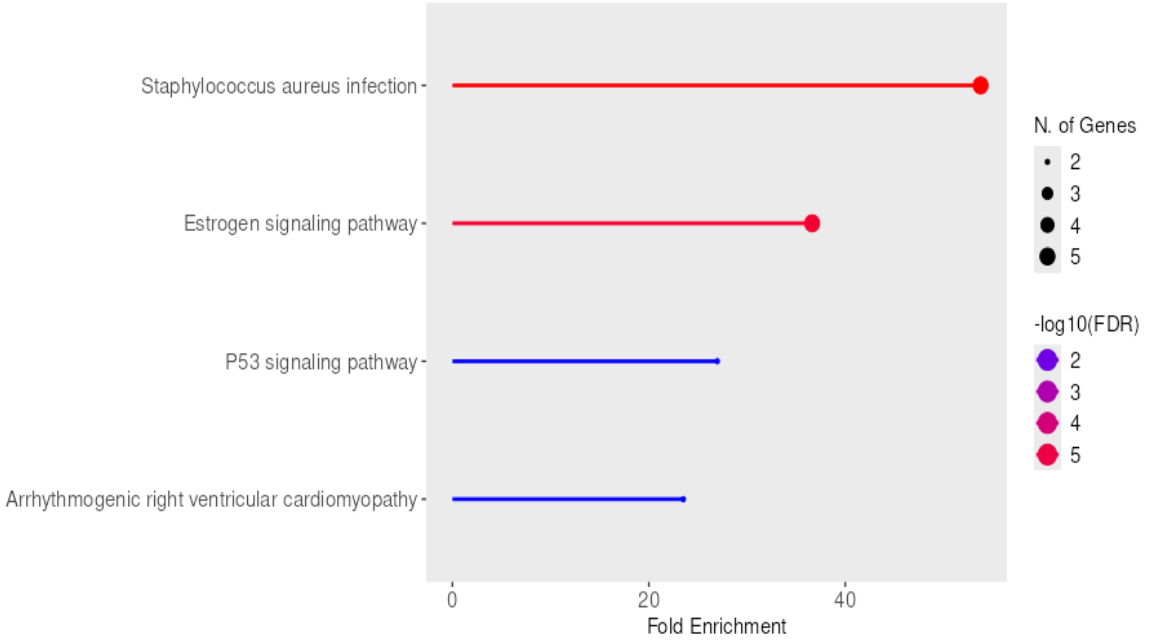
Şekil 4.9. HaCaT hücrelerine kimyasal uygulanmadan artmış genlerde seçili yolakların kat zenginleşmesi

Grup 4 (HaCaT-kimyasal uygulanmış) 'teki artmış ve azalmış genlerin yolak analizi sonuçları Şekil 4.10. ve 4.11.'da verilmiştir. Azalmış genler şunlardır; MMP1, FAP, MMP3, PSG4, COL1A2, HTRA1, LCE1F, COL6A3, CTHRC1, THY1, GST1, DCN, LCE2A, PRRX1, UCHL1, GREM1, AK5, ANPEP, POSTN, SPP1, LPXN, VIM, COL6A1. En çok etkilenmiş üç yolak ise; ECM reseptör etkileşimi, glutatyon metabolizması ve protein sindirimi-absorpsiyon yolaklarıdır.



Şekil 4.10. HaCaT hücrelerine kimyasal uygulanmasının ardından azalmış genlerde seçili yolakların kat zenginleşmesi

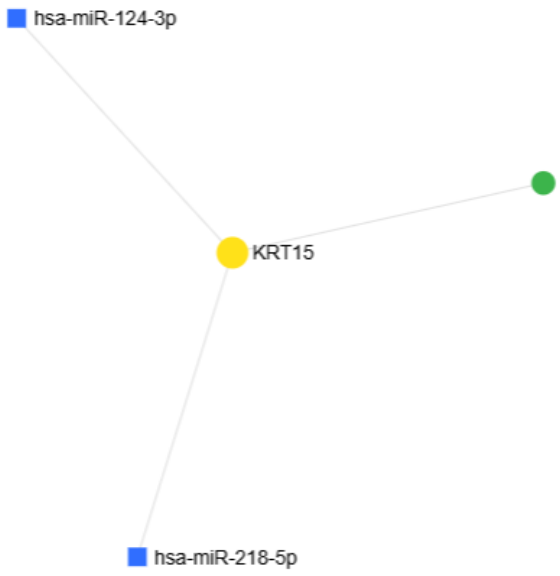
Artmış genler şunlardır; PCSK6, KRT19, TACSTD2, SERPINB5, KRT15TINAGL1, ITGB4, KRT18, SPINT2, FGFBP1, KRT8, KRT7, GPX2, KRT17, KRT14, KRT5, TRIM29, CDH3, UGT1A6, S100A14, COL17A1, KRT8, JUP, LAD1, SFN, KRT13. En çok etkilenen yolaklar ise Staphylococcus aureus enfeksiyonu ve östrojen sinyal yolağıdır.



Şekil 4.11. HaCaT hücrelerine kimyasal uygulanmasının ardından artmış genlerde seçili yolakların kat zenginleşmesi

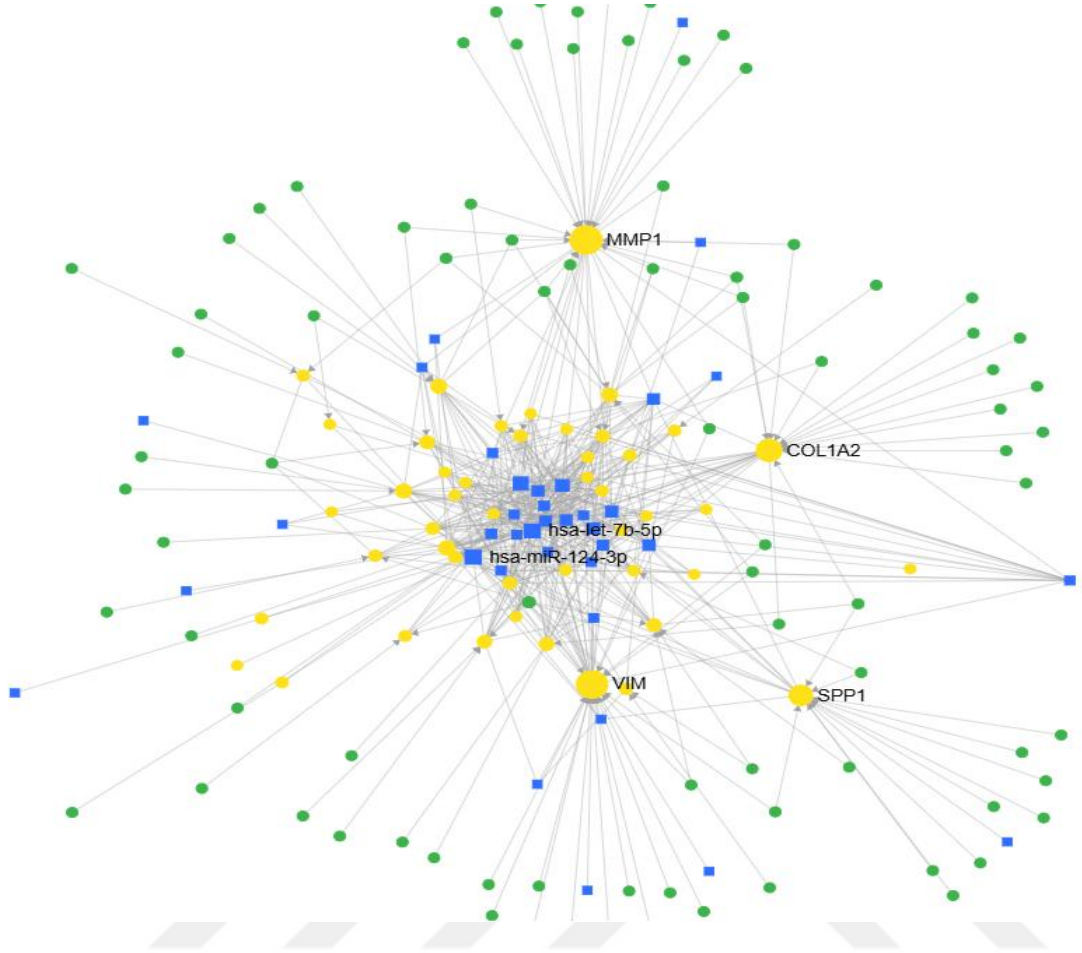
4.2.3. miRNA Analizi

Grup 1 (HDF-HN2 uygulanmış) için Şekil 4.12.'de sunulan miRNA-hedef gen etkileşim ağı, hsa-miR-124-3p ve hsa-miR-218-5p mikroRNA'larının ortak hedefi olarak KRT15 (Keratin 15) genini vurgulamaktadır. Bu diyagram, tipik bir miRNA hedefleme ağını temsil etmekte olup, mavi düğümlerle belirtilen miRNA'lar ile sarı düğümdeki hedef gen arasındaki regülatör ilişkileri çizgilerle göstermektedir. Biyolojik bağlamda, hsa-miR-124-3p nöral gelişim ve kanser supresyonunda kritik rol oynarken, hsa-miR-218-5p kemik gelişimi ile kanser progresyonunu modüle etmekte; her ikisi de post-transkripsiyonel düzeyde mRNA'ları baskılayarak gen ekspresyonunu düzenlemektedir. KRT15 ise epitelyal hücrelerin bazal katmanında stem hücre marker'ı olarak işlev gören bir ara filament proteini olup, deri ve mukozal dokularda proliferasyon ile farklılaşma süreçlerinde yer almaktadır. Bu etkileşim, potansiyel olarak epitelyal-mesenkimal geçiş veya kanser mekanizmalarını aydınlatmakta olup, RNA-seq tabanlı diferansiyel ekspresyon analizlerinde miRNA'ların KRT15 ekspresyonunu down-regüle ederek hücre davranışını etkileyebileceğini ima etmektedir.



Şekil 4.12. Grup 1 için hsa-miR-124-3p ve hsa-miR-218-5p mikroRNA'larının ortak hedef gen olan KRT15 (Keratin 15) ile regülatör etkileşim ağı. Mavi düğümler miRNA'ları, sarı düğüm hedef geni temsil etmekte olup, çizgiler potansiyel post-transkripsiyonel baskılama ilişkilerini göstermektedir.

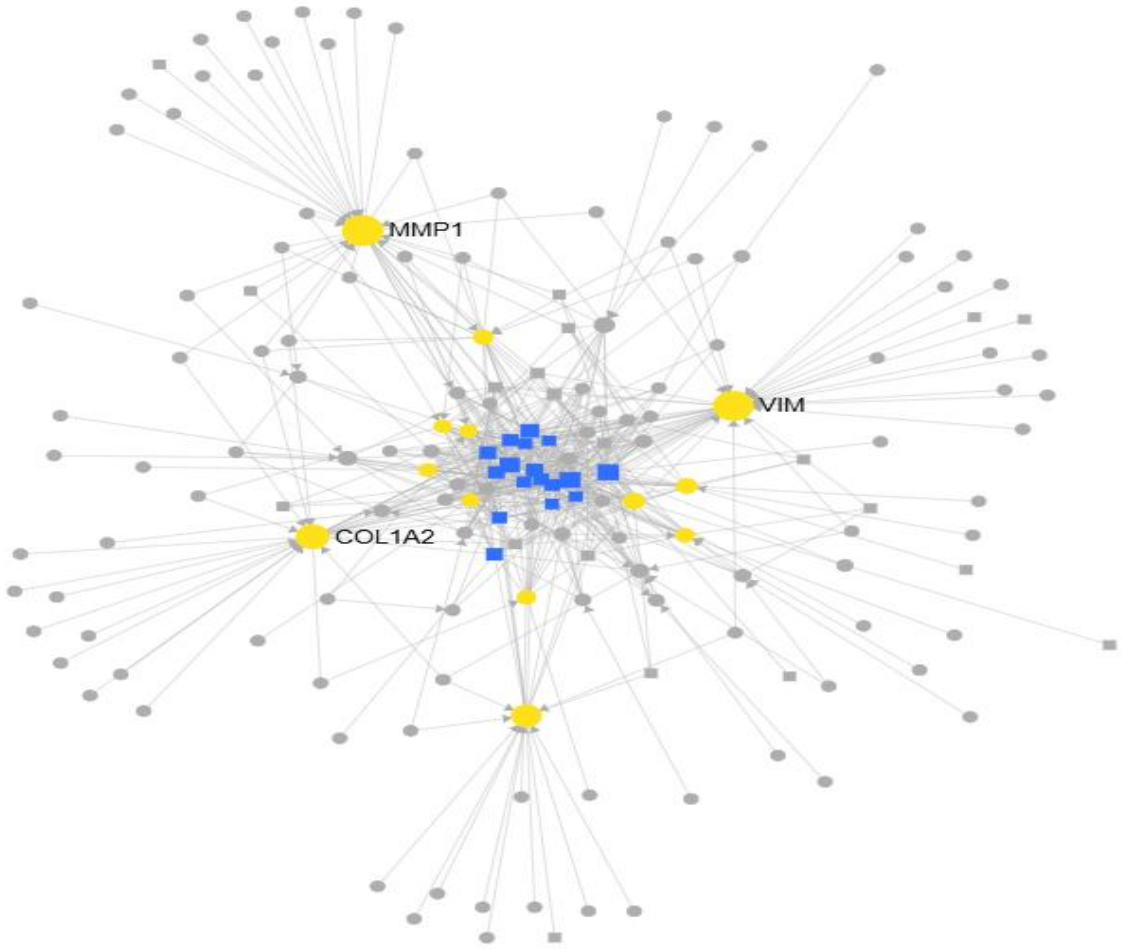
Grup 2 (HDF-kontrol) için Şekil 4.13.'te sunulan miRNA-hedef gen etkileşim ağı, miRNA enrichment analizi sonuçları, hipergeometrik test tabanlı istatistiksel değerlendirme ile belirli bir gen setinde miRNA hedeflerinin aşırı temsilini ortaya koymaktadır. En anlamlı enrichmeler, düşük düzeltilmiş p-değerleri (adj.Pval) ile mir-10 (adj.Pval=0.000578, Hits=5/24), mir-221 (adj.Pval=0.000826, Hits=3/6), mir-126 ve mir-145 (adj.Pval=0.00432, Hits=2/3) gibi miRNA'larda gözlenmekte olup, bu miRNA'ların hedef gen setinde beklenenden fazla temsil edildiğini göstermektedir. Orta düzeyde anlamlı sonuçlar mir-17 (adj.Pval=0.0276), mir-124 (adj.Pval=0.0327) ve mir-181 (adj.Pval=0.0816) gibi miRNA'larda belirlenirken, daha yüksek p-değerli miRNA'lar (örneğin, let-7 için adj.Pval=0.432) rastlantısal enrichmeleri işaret etmektedir. Bu bulgular, miRNA'ların post-transkripsiyonel regülasyon mekanizmalarını aydınlatmakta olup, örneğin mir-10'un hücre proliferasyonu ve migrasyon yolaklarında, mir-221'in ise anjiyogenez süreçlerinde potansiyel rollerini vurgulamaktadır; genel olarak, RNA-seq tabanlı diferansiyel ekspresyon analizleriyle entegre edildiğinde, epitelyal hücre dinamikleri veya kanser progresyonu gibi biyolojik süreçleri destekleyebilir.



Şekil 4.13. Grup 2 için mikroRNA'larının ortak hedef gen olan ile regülatör etkileşim ağı. Mavi düğümler miRNA'ları, sarı düğüm hedef geni temsil etmekte olup, çizgiler potansiyel post-transkripsiyonel baskılama ilişkilerini göstermektedir.

Grup 3 (HaCaT-kontrol) miRNA-gen hedefleme etkileşimleri, belirtilen miRNA'ların (hsa-let-7b-5p, hsa-miR-17-5p vb.) epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) ve ekstrasellüler matriks (ECM) ile ilişkili genler (VIM, MMP1, KRT18 vb.) üzerindeki post-transkripsiyonel regülatör etkilerini vurgulamaktadır (Şekil 4.14.). miRNA'ların hedef mRNA'lara bağlanarak çeviriyi baskılaması veya degrade etmesi mekanizmasına dayanmaktadır; örneğin, hsa-miR-124-3p'nin VIM'i hedeflemesi EMT'yi inhibe ederken, hsa-miR-145-5p'nin SPP1 ve POSTN'i baskılaması ECM yeniden düzenlenmesini modüle edebilir. Benzer şekilde, hsa-miR-17-5p ve hsa-miR-20a-5p'nin ITGB4 ve MMP3'ü, hsa-let-7b-5p'nin COL1A2 ve DCN'i hedeflemesi, hücre yapışma ve fibrotik süreçleri etkilemekte; bu bulgular, RNA-seq tabanlı diferansiyel

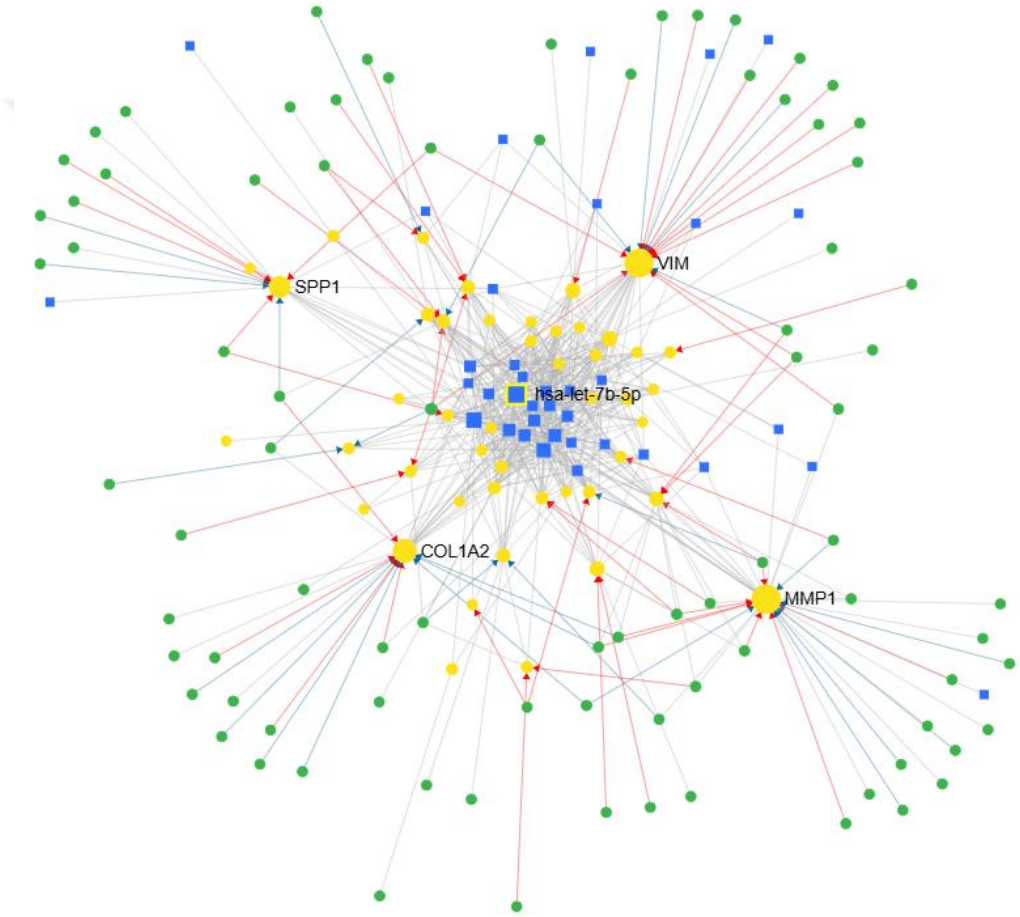
ekspresyon analizleriyle entegre edildiğinde, kanser progresyonu veya doku homeostazı gibi biyolojik mekanizmalarda miRNA'ların terapötik potansiyelini aydınlatmaktadır.



Şekil 4.14. Grup 3 için mikroRNA'larının ortak hedef gen olan ile regülatör etkileşim ağı. Mavi düğümler miRNA'ları, sarı düğüm hedef geni temsil etmekte olup, çizgiler potansiyel post-transkripsiyonel baskılama ilişkilerini göstermektedir.

Grup 4 için miRNA analizi yapıldığında doku spesifik analizler sonucunda belirlenen aday genler arasında, cilt homeostazı ve patolojilerinde sinerjistik roller üstlendiği bilinen SPP1, VIM, COL1A2 ve MMP1 genleri ile potansiyel bir düzenleyici olan hsa-miR-7b-5p mikroRNA'sı öne çıkmıştır. Bu moleküler panel, hücre dışı matriks (ECM) sentezi (COL1A2) ve degradasyonunu (MMP1), aynı zamanda epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) ile ilişkili hücre

adezyonu, göçü ve fenotip değişikliğini (SPP1 ve VIM) koordine eden bir sinyal ağını temsil etmektedir. Hsa-miR-7b-5p'in bu ağda bir üst düzenleyici olarak, örneğin SPP1 veya VIM ekspresyonunu modüle ederek ECM remodelinge ve hücresel plastisiteye katkıda bulunması muhtemeldir. Dolayısıyla, bu beş bileşenin ko-regülasyonu ve etkileşimi, kutanöz yara iyileşmesi, skleroderma gibi fibrotik hastalıklar ve keratinosit karsinogenezi gibi süreçlerdeki patolojik doku yeniden yapılanmasının anlaşılması için kritik bir moleküler çerçeve sunmaktadır (Şekil 4.15.).



Şekil 4.15. Grup 4 için mikroRNA'larının ortak hedef gen olan ile regülatör etkileşim ağı. Mavi düğümler miRNA'ları, sarı düğüm hedef geni temsil etmekte olup, çizgiler potansiyel post-transkripsiyonel baskılama ilişkilerini göstermektedir.

Çalışmada tespit edilen önemli miRNA'lar Tablo 4.1.'de sunulmuştur.

Tablo 4.1. Çalışmadaki önemli miRNA'lar

miRNA (Eşleştirilmiş)	**Hits (Hedef Sayısı)**	**Pval**	**adj.Pval**
hsa-miR-10b-5p (mir-10)	5/24	0.0000231	0.000578
hsa-miR-221-3p (mir-221)	3/6	0.0000661	0.000826
mir-126	2/3	0.000692	0.00432
hsa-miR-145-5p (mir-145)	2/3	0.000692	0.00432
hsa-miR-17-5p (mir-17)	3/24	0.00552	0.0276
hsa-miR-124-3p (mir-124)	2/9	0.00784	0.0327
hsa-miR-181a-5p / hsa-miR-181b-5p (mir-181)	2/18	0.0305	0.0816
mir-675	1/3	0.0457	0.0816
mir-328	1/3	0.0457	0.0816
hsa-miR-155-5p (mir-155)	1/3	0.0457	0.0816
mir-224	1/3	0.0457	0.0816
mir-205	1/3	0.0457	0.0816
hsa-miR-31-5p (mir-31)	1/3	0.0457	0.0816
hsa-miR-22-3p (mir-22)	1/3	0.0457	0.0816
mir-138	1/6	0.0894	0.124
mir-218	1/6	0.0894	0.124
hsa-miR-27b-3p (mir-27)	1/6	0.0894	0.124
hsa-miR-24-3p (mir-24)	1/6	0.0894	0.124
mir-290	1/9	0.131	0.164
hsa-miR-26a-5p (mir-26)	1/9	0.131	0.164
hsa-miR-941 (mir-941)	1/10	0.145	0.173
hsa-miR-130b-3p (mir-130)	1/12	0.171	0.194
mir-302	1/14	0.197	0.205
mir-8	1/14	0.197	0.205
hsa-let-7b-5p (let-7)	1/36	0.432	0.432

Akut HN2 maruziyetinin miRNA ekspresyonu üzerindeki etkilerini deney gruplarına göre sınıflandırarak değerlendirdiğimizde, grup içi (intra-group) ve gruplar arası (inter-group) farklar, miRNA'ların biyolojik fonksiyonları (örneğin, inflamasyon modülasyonu, fibrozis regülasyonu, epitelyal-mesenkimal geçiş - EMT - baskılaması ve hücre proliferasyonu) açısından belirginleşmektedir.

Gruplar arası karşılaştırmalarda, Grup 1 ile Grup 2 arasındaki farklar, HN2 maruziyetinin fonksiyonel kaymasını netleştirmekte; Grup 1'in pro-inflamatuar ve fibrotik teşvik edici miRNA'ları (örneğin, miR-20a-5p'nin TGF-β1 yoluyla fibrozis indüklemesi), Grup 2'nin koruyucu bazal miRNA'larından (let-7b-5p'nin kollajen sentezini inhibe etmesi) ayrışarak, maruziyetin inflamatuvar yanıtı amplifiye ettiğini ima etmekte, bu da enrichment analizindeki düşük adj.Pval değerleriyle (örneğin, mir-221 için 0.000826) desteklenen bir patofizyolojik geçişi yansıtmaktadır. Benzer şekilde, Grup 3 (HaCaT Kontrol) içindeki miRNA'lar (hsa-miR-22-3p, hsa-miR-24-3p, hsa-miR-31-5p, hsa-miR-205) epitelyal farklılaşma ve junction stabilizasyonu fonksiyonlarında grup içi tutarlılık sergilerken, Grup 4 (HaCaT HN2) ile karşılaştırıldığında belirgin inter-group farklar ortaya çıkmakta; Grup 4'ün miRNA'ları (hsa-miR-17-5p, hsa-miR-145-5p, hsa-miR-155-5p, hsa-miR-181a/b-5p) autophagy ve EMT inhibisyonu gibi adaptif fonksiyonlara odaklanarak NM'nin keratinositlerde gecikmiş yara iyileşmesini tetiklediğini göstermekte, örneğin miR-145-5p'nin anti-metastatik etkisi Grup 3'ün bazal epitelyal korumasıyla kontrast oluştururken, enrichment'ta yüksek anlamlılık (adj.Pval=0.00432) bu farkı doğrulamaktadır.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın temel amacı; HDF ve HaCaT hücre hatlarında, HN2 akut maruziyetine bağlı toksisitenin sistematik olarak incelenmesi ve bu süreçteki miRNA düzenleme mekanizmalarının rolünün aydınlatılmasıdır. Bu çerçevede, NM'nin tetiklediği hücresel hasar yanıtlarının değerlendirilmesi, diferansiyel miRNA ekspresyon profillerinin tanımlanması ve bu miRNA'ların ilişkili olduğu biyolojik yolakların kapsamlı analizi hedeflenmiştir. Çalışmada HN2'nin hücreler üzerinde akut toksisitesi belirlenmiş, transkriptom analizi yapılmış ve miRNA'lar belirlenmiştir. Bu çalışma aracılığıyla, nitrojen mustard kaynaklı akut deri toksisitesinin doku spesifik ve moleküler temellerinin daha derinlemesine anlaşılmasına katkı sağlanması, ayrıca miRNA tabanlı potansiyel biyobelirteçlerin ve terapötik hedeflerin belirlenmesine yönelik ilerlemeler kaydedilmesi gerçekleştirilmiştir.

HN2'nin (alkilleyici ajan), HDF ve HaCaT hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri, resazurin tabanlı metabolik aktivite testiyle sistematik olarak değerlendirilmiştir. HN2'nin çeşitli konsantrasyonlarda (200, 500, 1000 ve 2500 μM) ve inkübasyon sürelerinde (30 ve 60 dk) hücre canlılığını nasıl modüle ettiği incelenmiş olup, her iki hücre hattı için IC_{50} değeri 2500 μM olarak belirlenmiştir. Bulgular, HN2'nin sitotoksik potansiyelinin konsantrasyon ve maruziyet süresine bağımlı olduğunu vurgulamakta; özellikle HaCaT hücrelerinde 60 dakikalık inkübasyonun hücre canlılığını anlamlı düzeyde etkilemediği gözlemlenirken, optimal inkübasyon süreleri HaCaT için 30 dk ve HDF için 60 dk olarak optimize edilmiştir. Bu farklılıklar, hücre hatlarının özelliklerinden kaynaklanabilir.

Resazurin testi, hücrelerin metabolik kapasitesini floresans yoğunluğu ölçümü yoluyla belirleyerek, HN2'nin DNA hasarı ve hücre ölümü indüksiyonunu dolaylı olarak doğrulamaktadır. HN2'nin n yüksek konsantrasyonlarda IC_{50}'ye ulaşması, literatürdeki alkilleyici ajanların sitotoksik profiline paralellik göstermekte olup, bu ajanların kanser hücrelerinde apoptoz ve nekroz yolaklarını aktive ettiği bilinmektedir. Benzer şekilde, sağlıklı hücre hatlarında gözlemlenen toksisite, kemoterapötik ajanların normal dokulara yönelik potansiyel yan etkilerini aydınlatmaktadır; örneğin, HN2'nin n fibroblastlarda hücre döngüsü arrestini tetiklediği önceki çalışmalarla uyumlu bulgularımız, deri bazlı çalışmalarda doku spesifisitesinin önemini vurgulamaktadır. Resazurinin HN2 dahil alkilleyici ajanların

toksisitelerinin farklı hücre hatlarında ölçümünde hassasiyeti yüksek bir yöntem olduğu literatürde paylaşılmıştır [116].

Alkilleyici ajanlarının biyolojik etkilerini detaylandıran *in vitro* çalışmalar, farklı hedef doku ve hücre modelleri üzerinde yürütülmüştür. HaCaT, bu çalışmaların öncelikli ve yaygın modeli olarak öne çıkmaktadır. Bu hücrelerde, HN2 toksik etkileri genellikle 10 µM ile 200 µM arasındaki konsantrasyonlarda ve 30 dk ile 24 saat arasında değişen maruziyet sürelerinde incelenmiştir [117]. Özellikle, tümör baskılayıcı protein p53'ün fosforilasyonu gibi erken moleküler yanıtların, 50 µM HN2 uygulamasını takiben 1. saatte belirginleştiği ve 2. saatte zirveye ulaştığı gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, NM analogu 2-Kloroetil etil sülfit (CEES) için 0.25–1 mM aralığında dozlar kullanılmıştır [117]. Diğer epitel hücre hatları da toksisite mekanizmalarının genelliğini anlamak için kullanılmıştır. Örneğin, insan akciğer adenokarsinom hattı A549 hücrelerinde 1-50 µM aralığında HN2 uygulanmış ve hücreler 30 dk ile 24 saat arasında incelenmiştir; hücre döngüsü analizleri özellikle 2 ve 4 saatlik maruziyetlerde yapılmıştır [117]. Diğer modellerde ise, TK6 lenfoblastoid hücrelerinde 100 µM CEES ve 0.1-1 µM HN2 1-24 saat, insan korneal epitel (HCE) hücrelerinde 50-100 µM HN212-48 saat ve fare epidermal JB6 hücrelerinde 0.75 µM HN2 30 dk-24 saat sürelerle test edilmiştir [118]. Bu hücre temelli yaklaşımlara ek olarak, etkileşimlerin doğrudan incelenebilmesi için rekombinant protein çalışmaları da gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, rekombinant insan p53 proteini ile yapılan deneylerde, 2-200 µM aralığında HN2 kullanılmış ve reaksiyonlar genellikle 60 dk süresince inkübe edilmiştir. Bu geniş deneysel parametre yelpazesi, bu ajanlarının hücresel ve moleküler düzeydeki akut ve uzun vadeli etkilerinin kapsamlı bir şekilde haritalanmasını sağlamıştır ve bu çalışmayla paralellik göstermektedir.

HDF ve HaCaT hücre hatlarında akut kimyasal maruziyet (HN2) ve kontrol koşulları altında gerçekleştirilen gen ekspresyon analizleri, epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) ile ilişkili belirgin değişiklikleri ortaya koymuştur. Dört ana grupta (HDF-akut kimyasal maruziyet, HDF-kontrol, HaCaT-kontrol ve HaCaT-akut kimyasal maruziyet) gözlemlenen gen ekspresyon profilleri, hücre tipine ve tedavi koşullarına bağlı olarak epitelyal ve mezenkimal işaretleyicilerde sistematik kaymalar göstermektedir. Bu bulgular, akut maruziyetin HDF hücrelerinde EMT'yi tetikleyebileceğini, buna karşın HaCaT hücrelerinde ve kontrol koşullarında epitelyal fenotipin baskın kalabileceğini veya güçlenebileceğini

düşündürmektedir. Literatürde HN2 ile muamele edilen HaCaT hücrelerinde gerçekleştirilen uzun kodlamayan RNA (LncRNA) sekanslama analizi, bu ajanın gen ekspresyon düzeyinde önemli değişikliklere yol açtığını ortaya koymuştur. Analiz sonuçlarına göre, HN2 maruziyeti sonrasında toplamda 13 LncRNA'nın ekspresyonu anlamlı şekilde azalırken (downregüle), 18 LncRNA'nın ekspresyonu artmıştır (upregüle). Sonuç olarak, HN2 kaynaklı hücresel toksisitenin arka planında, LncRNA'ların ve özellikle LINC00707'nin düzenleyici bir rol oynadığını ortaya koyularak, yeni potansiyel mekanizmalar ve terapötik hedefler önerilmektedir [118].

Grup Bazlı Gen Ekspresyon Değişiklikleri incelenecek olursa Grup 1 (HDF-kimyasal): Bu grupta, epitelyal genler (örneğin, KRT18, KRT8, KRT7) belirgin bir azalış gösterirken, mezenkimal genler (örneğin, MMP1, FAP, COL1A2) artış eğilimi sergilemiştir. Bu patern, akut kimyasal maruziyetin HDF hücrelerinde epitelyal fenotipi teşvik ederek, mezenkimal özelliklerin baskılanmasını işaret etmektedir. Bu patern, HDF hücrelerinde kimyasal maruziyetin klasik bir Epitelyal-Mezenkimal Geçiş (EMT) sinyali oluşturduğunu düşündürmektedir.

Grup 2 (HDF-kontrol): Kontrol koşullarında, epitelyal genler (örneğin, KRT18, SPINT2, KRT7) artış gösterirken, mezenkimal genler (örneğin, MMP3, HTRA1, DCN) azalış ve geçişli bir profil gözlenmiştir. Bu grup, bazal durumdaki HDF hücrelerinin belirgin bir mezenkimal fenotip sergilemediğini, daha dengeli veya epitelyal özellikleri koruyan bir profil gösterdiğini ifade eder.

Grup 3 (HaCaT-kontrol): HaCaT hücrelerinde kontrol koşulları altında, mezenkimal genler (örneğin, FAP, COL6A3, THY1) azalış gösterirken, epitelyal genler (örneğin, KRT14, KRT5, SFN) artış ve geçişli bir patern izlemiştir. Bu bulgu, keratinositlerin bazal durumunda mezenkimal eğilimlerin baskılanmış olduğunu ve epitelyal özelliklerin kısmen baskınlığını vurgulamaktadır.

Grup 4 (HaCaT-kimyasal): akut kimyasal uygulanan HaCaT hücrelerinde, mezenkimal genler (örneğin, MMP1, MMP3, CTHRC1) azalış gösterirken, epitelyal genler (örneğin,

ITGB4, KRT17, KRT15) artış gözlenmiştir. Bu, kimyasal stresin HaCaT hücrelerinde EMT'yi yavaşladığını belirtmektedir.

Genel Artmış ve Azalmış Gen Profilleri değerlendirilecek olursa analizlerde HDF hücreleri, kimyasal maruziyete mezenkimal bir fenotipe kayarak (EMT) yanıt verirken, HaCaT hücreleri aynı uyarana epitelyal kimliğini pekiştirerek (MET/stabilizasyon) yanıt vermiştir. Bu zıt yanıtlar, aynı kimyasalın farklı hücre kökenlerinde tamamen farklı sinyal yollarını aktive edebileceğinin veya hücrelerin içsel kimlik programlarının dış uyaranları nasıl yorumladığında temel farklılıklar olduğunun güçlü bir göstergesidir.

Literatürde, HN2 maruziyetinin (65 µM, 21 gün gibi parametrelerle) HDF hücre hattında geri dönüşümsüz bir hücresel yaşlanma (senesens) durumunu indüklediği ve bu durumun, hücre döngüsü düzenleyicileri, büyüme faktörleri ve inflamatuar aracıların karakteristik gen ekspresyon değişimleri ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir [118]. Genetik düzeyde, hücre döngüsü ilerletici genler olan CCNA2, CCNB1 ve CDC25C ile transkripsiyon faktörü TWIST1'in ifadesi belirgin şekilde baskılanırken; büyüme faktörleri (FGF7, EGF), DNA hasarı yanıt geni GADD45G, hücre döngüsü inhibitörü CDKN1A (p21) ve matriks düzenleyiciler (IGFBP7, TIMP1, F13A1) güçlü bir şekilde yukarı regüle edilmektedir. Bu transkripsiyonel değişimler, protein düzeyinde kilit senesens belirteci p16INK4a'nın artışı ile doğrulanmıştır. Eş zamanlı olarak, hücreler belirgin bir Yaşlanma ile İlişkili Salgı Fenotipi (SASP) sergileyerek, IL-8, CCL2, CXCL1, CXCL5, CCL19, MIF, OPN ve MMP-3 gibi pro-inflamatuar ve doku remodelleme faktörlerinin sürekli sekresyonunu başlatmaktadır. Sonuç olarak NM, fibroblastlarda proliferatif kapasiteyi kalıcı olarak durduran ve kronik inflamatuar bir mikroçevreyi destekleyen koordine bir genetik programı aktive etmektedir [118].

Biyoinformatik analizlerde genel olarak, HDF ve HaCaT hatları arasındaki gruplar arası farklar, hücre tipine özgü fonksiyonel yanıtları aydınlatmakta; HDF grupları (1 ve 2) fibrozis odaklıyken HaCaT grupları (3 ve 4) EMT ve proliferasyon regülasyonunda baskındır. Bu farklar, grup içi homojenitenin maruziyet öncesi stabiliteyi, gruplar arası heterojenitenin ise patojenik kaymayı temsil ettiği bir modeli desteklemektedir.

Çalışmanın kısıtlamaları göz önünde bulundurulduğunda, *in vitro* ortamın *in vivo* koşulları tam olarak simüle etmemektedir. *In vivo* deney hayvanı çalışmalarında 3R Prensibine göre *in vitro* ve *in silico* çalışmalar önerilse de, mevcut deney kurgusunda sinir sistemi, immun sistem ve organ fonksiyonlarının olmadığı dikkate alınmalıdır. HN2'nin medya içindeki stabilitesi, vücut sıvıları veya metabolik faktörler tarafından modüle edilebilir. Yapılan çalışmalara ek tamamlayıcı yaklaşımlar (örneğin, Annexin V/PI akış sitometrisi veya Western blot ile kaspaz ekspresyonu analizi) önerilmektedir. Gelecekteki araştırmalar, NM'nin 3D deri organoid modelleri veya diğer dermal hücre tipleri üzerindeki etkilerini inceleyerek, topikal formülasyonların optimizasyonuna katkı sağlayabilir. Bu sebeple elde edilen bulguların *in vivo* olarak denenmesi önerilmektedir.

Ajanın bir KSA analoğu olması sebebiyle standart *in vitro* laboratuvar satın alma prosesleri ile temin edilememesi, dahası, halihazırda bir son kullanma tarihi bulunamaması, potansiyel aktivite kaybı çalışmasının biyolojik aktivite prosesleri ile gerçekleştirilememiş olması çalışmanın kısıtlılıklarındandır.

6. SONUÇ

Bu sonuçlar, HDF ve HaCaT hücre hatlarında HN2 akut kimyasal maruziyetinin EMT sürecini modüle ederek, hücre tipine özgü gen ekspresyon değişikliklerine yol açtığını göstermektedir. Özellikle, fibroblastlarda epitelyal geçişin teşvik edilmesi ve keratinositlerde mezenkimal geçişin hızlanması, potansiyel terapötik hedefler (örneğin, MMP inhibitörleri veya keratin ekspresyonunu restore eden ajanlar) için temel oluşturmaktadır. Gelecek çalışmalar, bu gen ağlarının fonksiyonel validasyonu ve *in vivo* modellerde doğrulanması yoluyla, kimyasal stresin deri patolojilerindeki rolünü aydınlatabilir. Bu bulgular, deri hücrelerinde çevresel stresörlere karşı hücresel adaptasyon mekanizmalarını anlamada önemli bir adım teşkil etmektedir.

KBRN alanında yapılacak olan *in silico* çalışmalarda moleküler docking ve simülasyon çalışmaları, dijital ikizlerin üretilmesi önem kazanmaktadır. Ayrıca insan mimetik *in vitro* modelllerin geliştirilmesi bu alana katkı sağlayacaktır.

Bu bulgular, Tıbbi KBRN bağlamında kimyasal tehditlere maruziyet sonrası gelişen doku hasarının erken tanılanması, prognozun öngörülmesi ve hedefe yönelik tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından önemli çıkarımlar sunmaktadır. Nitrojen mustard gibi vezikan ajanların neden olduğu hücresel yeniden programlanmanın moleküler imzalarının ortaya konulması, biyogösterge temelli erken uyarı sistemlerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir. Ayrıca, EMT ile ilişkili gen ağlarının hedeflenmesi, kimyasal maruziyet sonrası gelişen fibrozis, kronik inflamasyon ve malign dönüşüm riskinin azaltılmasına yönelik koruyucu ve terapötik yaklaşımların tasarlanmasına olanak tanıyabilir. Elde edilen veriler yalnızca temel hücre biyolojisi açısından değil, aynı zamanda hem kamusal ve askeri sağlık sistemlerinde kimyasal tehditlere karşı hazırlık ve müdahale kapasitesinin güçlendirilmesi açısından da stratejik bir değer taşımaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Valenzuela-Tapia LN, Quintul CA, Rubio-Concha ND, et al. "The Blurred Lines Between New Psychoactive Substances and Potential Chemical Weapons." Toxics. 2025;13(8):659. Published 2025 Aug 1. doi:10.3390/toxics13080659

2. Chauhan S, Chauhan S, D'Cruz R, et al. "Chemical warfare agents." Environ Toxicol Pharmacol. 2008;26(2):113-122. doi:10.1016/j.etap.2008.03.003.

3. Costanzi S. "Chemical warfare agents." In: Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. Wiley; 2020. doi:10.1002/0471238961.0308051308011818.a01.pub3

4. Ganesan K, Raza SK, Vijayaraghavan R. "Chemical warfare agents." J Pharm Bioallied Sci. 2010;2(3):166-178. doi:10.4103/0975-7406.68498

5. Jain N. "Terrorism at rise with the chemicals insight: use of chemical warfare agents an issue of global concern." J Forensic Chem Toxicol. 2023;9(1):47-51. doi:10.21088/jfct.2454.9363.9123.3

6. Watson KD. "Chemical warfare agents: toxicology and treatment." Med Hist. 1997;41(2):258. doi:10.1017/S0025727300062645

7. Schwenk M. "Chemical warfare agents. Classes and targets." Toxicol Lett. 2018;293:253-263. doi:10.1016/j.toxlet.2017.11.040

8. Maynard R, Marrs TC, Sidell F. "Toxicology of chemical warfare agents. In: General," Applied and Systems Toxicology. Wiley-VCH; 2009. doi:10.1002/9780470744307.gat131

9. Aroniadou-Anderjaska V, Apland JP, Figueiredo TH, et al. "Acetylcholinesterase inhibitors (nerve agents) as weapons of mass destruction: History, mechanisms of action, and medical countermeasures." Neuropharmacology. 2020;181:108298. doi:10.1016/j.neuropharm.2020.108298

10. EAPCCT Scientific Committee, et al. "Abstracts of the European Association of Poisons Centres and Clinical Toxicologists ." XXII International Congress. J Toxicol Clin Toxicol. 2002;40:241-399. doi:10.1081/clt-120005494

11. Szinicz L. "History of chemical and biological warfare agents." Toxicology. 2005;214(3):167-181. doi:10.1016/j.tox.2005.06.011

12. Kozlov MY, et al. "History of the use of chemical weapons for military purposes and the possibility of their current use." Scientific Bulletin of the Omsk State Medical University. 2024;13:75-86. doi:10.61634/2782-3024-2024-13-75-86

13. Arustamyan OM, Tkachyshyn VS. "The history of the use of chemical warfare agents during World War I." Emergency Medicine. 2017;4(4):100-104. doi:10.22141/2224-0586.4.83.2017.107430

14. Nicholson-Roberts TC. "Phosgene use in World War 1 and early evaluations of pathophysiology." J R Army Med Corps. 2019;165(3):183-187. doi:10.1136/jramc-2018-001072

15. Marzec J, Nadadur S. "Countermeasures against Pulmonary Threat Agents." J Pharmacol Exp Ther. 2024;388(2):560-567. Published 2024 Jan 17. doi:10.1124/jpet.123.001822

16. Black R. "CHAPTER 1: Development, Historical Use and Properties of Chemical Warfare Agents." In: Worek F, Jenner J, Thiermann H, eds. Chemical Warfare Toxicology, Volume 1: Fundamental Aspects. Royal Society of Chemistry; 2016:1-28. doi:10.1039/9781782622413-00001

17. Nelga IA, Medvetsky IV, Zlobin AV, et al. "Chemical weapons: history of the study of organophosphorus toxic agents abroad." Journal of NBC Protection Corps. 2019;3(2):175-193. doi:10.35825/2587-5728-2019-3-2-175-193

18. Arustamian OM, et al. "Experience in the use of chemical warfare agents in the postwar period and during the World War II." Emergency Medicine (Ukraine). 2017;4(83):105-109. doi:10.22141/2224-0586.4.83.2017.107431

19. Schmaltz F. "Neurosciences and research on chemical weapons of mass destruction in Nazi Germany." J Hist Neurosci. 2006;15(3):186-209. doi:10.1080/09647040600658229

20. Zlobin A, Inozemcev V, Komissarenko S, et al. "Main steps of developing chemical organophosphorus agents abroad." In: Organophosphorus Neurotoxins. Publishing Center RIOR; 2020. doi:10.29039/chapter_5e4132b5e7e856.69190447.

21. Haines DD, Fox SC. "Acute and Long-Term Impact of Chemical Weapons: Lessons from the Iran-Iraq War." Forensic Sci Rev. 2014;26(2):97-114.

22. Foroutan SA, Tu A. "An example of chemical war: The Iran–Iraq War. In: Chemical and Biological Weapons and Terrorism." CRC Press/Taylor & Francis Group; 2017:49-64. doi:10.1201/9781315305516-3.

22. Lee EC. "Clinical manifestations of sarin nerve gas exposure." JAMA. 2003;290(5):659-662. doi:10.1001/jama.290.5.659

23. Kovtun VA, Supotnitskiy MV, Shilo NI. "Chemical Weapons in the Iran-Iraq War (1980–1988). 2. Combat Use of Chemical Weapons." Journal of NBC Protection Corps. 2019;3(2):150-174. doi:10.35825/2587-5728-2019-3-2-150-174

24. Soltaninejad K, Shadnia S. "History of the use and epidemiology of organophosphorus poisoning. In: Balali-Mood M, Abdollahi M, eds. Basic and Clinical Toxicology of Organophosphorus Compounds." Springer; 2014:25-43. doi:10.1007/978-1-4471-5625-3_2

25. Imobersteg U. "Chemical Weapons: The United Nations Team of Experts in the Iran-Iraq War." Prehospital and Disaster Medicine. 1991;6(1):41-42. doi:10.1017/S1049023X00028053

26. Rodriguez-Llanes JM, Guha-Sapir D, Schlüter BS, Hicks MH. "Epidemiological findings of major chemical attacks in the Syrian war are consistent with civilian targeting: a short report." Confl Health. 2018;12:16. Published 2018 Apr 16. doi:10.1186/s13031-018-0150-4.

27. Brooks J, Erickson TB, Kayden S, Ruiz R, et al. "Responding to chemical weapons violations in Syria: legal, health, and humanitarian recommendations." Confl Health. 2018;12:12. Published 2018 Feb 19. doi:10.1186/s13031-018-0143-3

28. Péterfi CT. "Are the Improvised Chemical Weapons as Efficient as Media Claims They Are? Case Study: the Syrian War." Romanian Military Thinking. 2021;2:88-111. https://en-gmr.mapn.ro/webroot/fileslib/upload/files/arhiva%20reviste/RMT/2021/2/PETERFI.pdf

29. Fateenkov VN. "The Convention on the Prohibition of the Development, Production, Stockpiling and Use of Chemical Weapons and on their Destruction: History of Signing and Key Points." Journal of NBC Protection Corps. 2020;4(2):104-115. doi:10.35825/2587-5728-2020-4-1-104-115

30. Prakoso LT. "Law enforcement in the use of chemical weapons in armed conflict." Spirit of Society Journal. 2019;5(2):1–9. doi:10.29138/spirit.v5i2.1000

31. Üzümcü A. "The Chemical Weapons Convention--disarmament, science and technology."Anal Bioanal Chem. 2014;406(21):5071-5073. doi:10.1007/s00216-014-7956-8

32. Organisation for the Prohibition of Chemical Weapons (OPCW). "The Geneva Protocol of 1925." OPCW; 2023. Accessed October 26, 2024. https://www.opcw.org/chemical-weapons-convention/history/geneva-protocol-1925

33. Schindler D, Toman J. "Convention on the Prohibition of the Development, Production, Stockpiling and Use of Chemical Weapons and on Their Destruction. In: The Laws of Armed Conflicts." Brill | Nijhoff; 2004:239-283. doi:10.1163/9789047405238_025

34. Nguyen TH. " Countering the future chemical weapons threat." Science. 2022;376(6591):355-357. doi:10.1126/science.abo6380

35. R. Trapp et al. "The Use of Chemical Weapons in Syria: Implications and Consequences." 2017; 363-375. https://doi.org/10.1007/978-3-319-51664-6_19.

36. Mangerich A, Esser C. "Chemical warfare in the First World War: reflections 100 years later." Arch Toxicol. 2014;88(11):1909-1911. doi:10.1007/s00204-014-1370-z

37. Kelle, A. "The CWC at 25: from verification of chemical-weapons destruction to attribution of their use." The Nonproliferation Review, 2021;28(2-4), 319–336. https://doi.org/10.1080/10736700.2023.2180234

38. List of Chemical Warfare Agents, https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_chemical_warfare_agents, (accessed 26/10/2024)

39. Carlsen L. "After Salisbury Nerve Agents Revisited." Mol Inform. 2019;38(8-9):e1800106. doi:10.1002/minf.201800106

40. Centers for Disease Control and Prevention. *Choking/Lung/Pulmonary Agents*. Emergency Preparedness and Response. https://emergency.cdc.gov/agent/pulmonary/index.asp. Published n.d. Accessed October 26, 2024.

41. Thomas BS. "Novel colorimetric mustard sensing in surfactant and microemulsion systems." PhD thesis. Cardiff University; 2022. Available at: https://orca.cardiff.ac.uk/id/eprint/158262/

42. Sartori MF. "New developments in the chemistry of war gases. " Chem Rev. 1951;48(2):225-57.

43. Kan Zehirleyici Ajanlar, https://www.afad.gov.tr/kbrn/kan-zehirleyici-ajanlar, (accessed 26/10/2024)

44. Dacre JC, Goldman M. "Toxicology and pharmacology of the chemical warfare agent sulfur mustard." Pharmacol Rev. 1996;48(2):289-326.

45. Smith KJ, Hurst CG, Moeller RB, et al. "Sulfur mustard: its continuing threat as a chemical warfare agent, the cutaneous lesions induced, progress in understanding its mechanism of action, its long-term health effects, and new developments for protection and therapy. " J Am Acad Dermatol. 1995;32(5 Pt 1):765-776. doi:10.1016/0190-9622(95)91457-9

46. Chang YC, Gordon MK, Gerecke DR. "Expression of Laminin 332 in Vesicant Skin Injury and Wound Repair. " Clin Dermatol (Wilmington). 2018;2(1):115.
47. Watson AP, Griffin GD. "Toxicity of vesicant agents scheduled for destruction by the Chemical Stockpile Disposal Program. " Environ Health Perspect. 1992;98:259-280. doi:10.1289/ehp.9298259
48. Li C, Srivastava RK, Weng Z, et al. "Molecular Mechanism Underlying Pathogenesis of Lewisite-Induced Cutaneous Blistering and Inflammation: Chemical Chaperones as Potential Novel Antidotes." Am J Pathol. 2016;186(10):2637-2649. doi:10.1016/j.ajpath.2016.06.012
49. Arroyo CM, Burman DL, Kahler DW, et al. "TNF-alpha expression patterns as potential molecular biomarker for human skin cells exposed to vesicant chemical warfare agents: sulfur mustard (HD) and Lewisite (L). " Cell Biol Toxicol. 2004;20(6):345-359. doi:10.1007/s10565-004-0086-x
50. Tewari-Singh N, Jain AK, Inturi S, Agarwal C, et al. "Agarwal R. Silibinin attenuates sulfur mustard analog-induced skin injury by targeting multiple pathways connecting oxidative stress and inflammation." PLoS One. 2012;7(9):e46149. doi:10.1371/journal.pone.0046149
51. Chun EH, Gonzales L, Lewis FS, Jones J, Rutman RJ. "Differences in the *in vivo* alkylation and cross-linking of nitrogen mustard-sensitive and -resistant lines of Lettré-Ehrlich asites tumors. " Cancer Res. 1969;29(6):1184-1194.
52. Karnofsky DA, Graef I, Smith HW. "Studies on the mechanism of action of the nitrogen and sulfur mustards *in vivo*. " Am J Pathol. 1948;24(2):275-291.
53. Wang QQ, Begum RA, Day VW, Bowman-James K. "Sulfur, oxygen, and nitrogen mustards: stability and reactivity. " Org Biomol Chem. 2012;10(44):8786-93.
54. Munro NB, Talmage SS, Griffin GD, et al. "The sources, fate, and toxicity of chemical warfare agent degradation products. " Environ Health Perspect. 1999;107(12):933-974. doi:10.1289/ehp.99107933
55. Barron ES, Bartlett GR, Miller ZB. "The effect of nitrogen mustards on enzymes and tissue metabolism; the effect on enzymes." J Exp Med. 1948;87(6):489-501. doi:10.1084/jem.87.6.489
56. Sinha NR, Hofmann AC, Suleiman LA, et al. "Mustard Gas Induced Corneal Injury Involves Ferroptosis and p38 MAPK Signaling." Invest Ophthalmol Vis Sci. 2025;66(1):23. doi:10.1167/iovs.66.1.23
57. Dong X, He Y, Ye F, et al. "Vitamin D3 ameliorates nitrogen mustard-induced cutaneous inflammation by inactivating the NLRP3 inflammasome through the SIRT3-SOD2-mtROS signaling pathway." Clin Transl Med. 2021;11(2):e312. doi:10.1002/ctm2.312
58. Tewari-Singh N, Rana S, Gu M, et al. "Differential biochemical and histological alterations in SKH-1 mouse skin following topical nitrogen mustard and sulfur mustard exposure." PLoS One. 2014;9(10):e111211. doi: 10.1371/journal.pone.0085402
59. Tewari-Singh N, Jain AK, Inturi S, White CW, Agarwal R. "Clinically-relevant cutaneous lesions by nitrogen mustard: useful biomarkers of vesicants skin injury in SKH-1 hairless and C57BL/6 mice." PLoS One. 2013;8(6):e67557. Published 2013 Jun 24. doi:10.1371/journal.pone.0067557
60. Basu SK, Tewari-Singh N, Croutch CR, et al. "Mouse model of nitrogen mustard–induced ocular surface injury and evaluation of sphingolipid signaling. " International Journal of Molecular Sciences. 2024;25(1):article number.

61. Venosa A, Malaviya R, Choi H, et al. "Characterization of Distinct Macrophage Subpopulations during Nitrogen Mustard-Induced Lung Injury and Fibrosis." Am J Respir Cell Mol Biol. 2016;54(3):436-446. doi:10.1165/rcmb.2015-0120OC

62. Au L, Meisch JP, Das LM, et al. "Suppression of Hyperactive Immune Responses Protects against Nitrogen Mustard Injury." J Invest Dermatol. 2015;135(12):2971-2981. doi:10.1038/jid.2015.322

63. Spitz S. "The histological effects of nitrogen mustards on human tumors and tissues." Cancer. 1948;1(3):383-398. doi:10.1002/1097-0142(194809)1:3<383::aid-cncr2820010304>3.0.co;2-0

64. An S, Shen X, Anwar K, et al. "Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cell-Secreted Factors on Delay in Corneal Wound Healing by Nitrogen Mustard." Int J Mol Sci. 2022;23(19):11510. Published 2022 Sep 29. doi:10.3390/ijms231911510

65. Kim JA, Seong RK, Son SW, Shin OS. "Insights into ZIKV-Mediated Innate Immune Responses in Human Dermal Fibroblasts and Epidermal Keratinocytes." J Invest Dermatol. 2019;139(2):391-399. doi:10.1016/j.jid.2018.07.038

66. Zhong A, Xu W, Zhao J, et al. "S100A8 and S100A9 Are Induced by Decreased Hydration in the Epidermis and Promote Fibroblast Activation and Fibrosis in the Dermis." Am J Pathol. 2016;186(1):109-122. doi:10.1016/j.ajpath.2015.09.005

67. Zhang J, Yu H, Man MQ, Hu L. "Aging in the dermis: Fibroblast senescence and its significance. " Aging Cell. 2024;23(2):e14054. doi:10.1111/acel.14054

68. Nosrati F, Grillari J, Azarnia M, et al. "The expression of fibrosis-related genes is elevated in doxorubicin-induced senescent human dermal fibroblasts, but their secretome does not trigger a paracrine fibrotic response in non-senescent cells." Biogerontology. 2023;24(2):293-301. doi:10.1007/s10522-022-10013-y

69. Stunova A, Vistejnova L. "Dermal fibroblasts-A heterogeneous population with regulatory function in wound healing." Cytokine Growth Factor Rev. 2018;39:137-150. doi:10.1016/j.cytogfr.2018.01.003

70. Quan C, Cho MK, Shao Y, et al. "Dermal fibroblast expression of stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) promotes epidermal keratinocyte proliferation in normal and diseased skin." Protein Cell. 2015;6(12):890-903. doi:10.1007/s13238-015-0198-5

71. Chen X, Wu Y, Jia S, Zhao M. "Fibroblast: A Novel Target for Autoimmune and Inflammatory Skin Diseases Therapeutics. " Clin Rev Allergy Immunol. 2024;66(3):274-293. doi:10.1007/s12016-024-08997-1

72. Sierra-Sánchez Á, Barbier MA, Magne B, et al. "Comparison of Two Human Skin Cell Isolation Protocols and Their Influence on Keratinocyte and Fibroblast Culture." Int J Mol Sci. 2023;24(19):14712. Published 2023 Sep 28. doi:10.3390/ijms241914712

73. Philippeos C, Telerman SB, Oulès B, et al. "Spatial and Single-Cell Transcriptional Profiling Identifies Functionally Distinct Human Dermal Fibroblast Subpopulations." J Invest Dermatol. 2018;138(4):811-825. doi:10.1016/j.jid.2018.01.016

74. Lynch MD, Watt FM. "Fibroblast heterogeneity: implications for human disease." J Clin Invest. 2018;128(1):26-35. doi:10.1172/JCI93555

75. Wynn TA. "Cellular and molecular mechanisms of fibrosis." J Pathol. 2008;214(2):199-210. doi:10.1002/path.2277
76. El Ayadi A, Jay JW, Prasai A. "Current Approaches Targeting the Wound Healing Phases to Attenuate Fibrosis and Scarring. " Int J Mol Sci. 2020;21(3):1105. Published 2020 Feb 7. doi:10.3390/ijms21031105
77. Voza FA, Huerta CT, Le N, et al. "Fibroblasts in Diabetic Foot Ulcers." Int J Mol Sci. 2024;25(4):2172. Published 2024 Feb 11. doi:10.3390/ijms25042172
78. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC. "Wound Healing: A Cellular Perspective." Physiol Rev. 2019;99(1):665-706. doi:10.1152/physrev.00067.2017
79. Boukamp P, Petrussevska RT, Breitkreutz D, et al. "Normal keratinization in a spontaneously immortalized aneuploid human keratinocyte cell line." J Cell Biol. 1988;106(3):761-771. doi:10.1083/jcb.106.3.761
80. Breitkreutz D, Boukamp P, Ryle CM, et al. "Epidermal morphogenesis and keratin expression in c-Ha-ras-transfected tumorigenic clones of the human HaCaT cell line." Cancer Res. 1991;51(16):4402-4409.
81. Schoop VM, Mirancea N, Fusenig NE. "Epidermal organization and differentiation of HaCaT keratinocytes in organotypic coculture with human dermal fibroblasts. " J Invest Dermatol. 1999;112(3):343-353. doi:10.1046/j.1523-1747.1999.00524.x
82. Boelsma E, Verhoeven MC, Ponec M. "Reconstruction of a human skin equivalent using a spontaneously transformed keratinocyte cell line (HaCaT)." J Invest Dermatol. 1999;112(4):489-498. doi:10.1046/j.1523-1747.1999.00545.x
83. Kok JML, Dowd GC, Cabral JD, Wise LM. "*Macrocystis pyrifera* Lipids Reduce Cytokine-Induced Pro-Inflammatory Signalling and Barrier Dysfunction in Human Keratinocyte Models." Int J Mol Sci. 2023;24(22):16383. Published 2023 Nov 16. doi:10.3390/ijms242216383
84. Souto EB, Zielinska A, Souto SB, et al. "(+)-Limonene 1,2-Epoxide-Loaded SLNs: Evaluation of Drug Release, Antioxidant Activity, and Cytotoxicity in an HaCaT Cell Line." Int J Mol Sci. 2020;21(4):1449. Published 2020 Feb 20. doi:10.3390/ijms21041449
85. Gallegos-Alcalá P, Jiménez M, Cervantes-García D, et al. "Glycomacropeptide Protects against Inflammation and Oxidative Stress, and Promotes Wound Healing in an Atopic Dermatitis Model of Human Keratinocytes." Foods. 2023;12(10):1932. Published 2023 May 9. doi:10.3390/foods12101932
86. Ullmann R, Becker BV, Rothmiller S, et al. "Genomic Adaption and Mutational Patterns in a HaCaT Subline Resistant to Alkylating Agents and Ionizing Radiation." Int J Mol Sci. 2021;22(3):1146. Published 2021 Jan 24. doi:10.3390/ijms22031146
87. Beckert B, Panico F, Pollmann R, et al. "Immortalized Human hTert/KER-CT Keratinocytes a Model System for Research on Desmosomal Adhesion and Pathogenesis of Pemphigus Vulgaris." Int J Mol Sci. 2019;20(13):3113. Published 2019 Jun 26. doi:10.3390/ijms20133113
88. Xin Y, Xu P, Wang X, et al. "Human foreskin-derived dermal stem/progenitor cell-conditioned medium combined with hyaluronic acid promotes extracellular matrix regeneration in diabetic wounds." Stem Cell Res Ther. 2021;12(1):49. Published 2021 Jan 9. doi:10.1186/s13287-020-02116-5

89. Tutuianu R, Rosca AM, Iacomi DM, et al. "Human Mesenchymal Stromal Cell-Derived Exosomes Promote In Vitro Wound Healing by Modulating the Biological Properties of Skin Keratinocytes and Fibroblasts and Stimulating Angiogenesis." Int J Mol Sci. 2021;22(12):6239. Published 2021 Jun 9. doi:10.3390/ijms22126239

90. Li JY, Ren KK, Zhang WJ, et al. "Human amniotic mesenchymal stem cells and their paracrine factors promote wound healing by inhibiting heat stress-induced skin cell apoptosis and enhancing their proliferation through activating PI3K/AKT signaling pathway." Stem Cell Res Ther. 2019;10(1):247. Published 2019 Aug 9. doi:10.1186/s13287-019-1366-y

91. Mazini L, Rochette L, Admou B, Amal S, Malka G. "Hopes and Limits of Adipose-Derived Stem Cells (ADSCs) and Mesenchymal Stem Cells (MSCs) in Wound Healing." Int J Mol Sci. 2020;21(4):1306. Published 2020 Feb 14. doi:10.3390/ijms21041306

92. Ren S, Chen J, Duscher D, et al. "Microvesicles from human adipose stem cells promote wound healing by optimizing cellular functions via AKT and ERK signaling pathways." Stem Cell Res Ther. 2019;10(1):47. Published 2019 Jan 31. doi:10.1186/s13287-019-1152-x

93. Jiang T, Wang Z, Sun J. "Human bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes stimulate cutaneous wound healing mediates through TGF-β/Smad signaling pathway." Stem Cell Res Ther. 2020;11(1):198. Published 2020 May 24. doi:10.1186/s13287-020-01723-6

94. Wang Z, Gerstein M, Snyder M. "RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics." Nat Rev Genet. 2009;10(1):57-63. doi:10.1038/nrg2484.

95. Trapnell C, Hendrickson DG, Sauvageau M, et al. "Differential analysis of gene regulation at transcript resolution with RNA-seq." Nat Biotechnol. 2013;31(1):46-53. doi:10.1038/nbt.2450

96. Li YI, Knowles DA, Humphrey J, et al. "Annotation-free quantification of RNA splicing using LeafCutter. " Nat Genet. 2018;50(1):151-158. doi:10.1038/s41588-017-0004-9

97. Sahraeian SME, Mohiyuddin M, Sebra R, et al. "Gaining comprehensive biological insight into the transcriptome by performing a broad-spectrum RNA-seq analysis." Nat Commun. 2017;8(1):59. Published 2017 Jul 5. doi:10.1038/s41467-017-00050-4

98. Santucci K, Cheng Y, Xu SM, Janitz M. "Computational methods for the analysis of long-read RNA-seq data." Genomics. 2025;117(6):111144. doi:10.1016/j.ygeno.2025.111144

99. Bray NL, Pimentel H, Melsted P, Pachter L. "Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification." Nat Biotechnol. 2016;34(5):525-527. doi:10.1038/nbt.3519

100. Vaquero-Garcia J, Aicher JK, Jewell S, et al. "RNA splicing analysis using heterogeneous and large RNA-seq datasets." Nat Commun. 2023;14(1):1230. Published 2023 Mar 3. doi:10.1038/s41467-023-36585-y

101. Dobin A, Gingeras TR. "Mapping RNA-seq Reads with STAR." Curr Protoc Bioinformatics. 2015;51:11.14.1-11.14.19. Published 2015 Sep 3. doi:10.1002/0471250953.bi1114s51

102. Bushmanova E, Antipov D, Lapidus A, Prjibelski AD. "rnaSPAdes: a de novo transcriptome assembler and its application to RNA-Seq data." Gigascience. 2019;8(9):giz100. doi:10.1093/gigascience/giz100

103. Zhang XO, Dong R, Zhang Y, et al. "Diverse alternative back-splicing and alternative splicing landscape of circular RNAs." Genome Res. 2016;26(9):1277-1287. doi:10.1101/gr.202895.115
104. Bournazos AM, Riley LG, Bommireddipalli S, et al. "Standardized practices for RNA diagnostics using clinically accessible specimens reclassifies 75% of putative splicing variants." Genet Med. 2022;24(1):130-145. doi:10.1016/j.gim.2021.09.001
105. O'Neill MJ, Yang T, Laudeman J, et al. "ParSE-seq: a calibrated multiplexed assay to facilitate the clinical classification of putative splice-altering variants." Nat Commun. 2024;15(1):8320. Published 2024 Sep 27. doi:10.1038/s41467-024-52474-4
106. Uapinyoying P, Goecks J, Knoblach SM, et al. "A long-read RNA-seq approach to identify novel transcripts of very large genes. " Genome Res. 2020;30(6):885-897. doi:10.1101/gr.259903.119
107. Al'Khafaji AM, Smith JT, Garimella KV, et al. "High-throughput RNA isoform sequencing using programmed cDNA concatenation." Nat Biotechnol. 2024;42(4):582-586. doi:10.1038/s41587-023-01815-7
108. Mertes C, Scheller IF, Yépez VA, et al. "Detection of aberrant splicing events in RNA-seq data using FRASER." Nat Commun. 2021;12(1):529. Published 2021 Jan 22. doi:10.1038/s41467-020-20573-7
109. Zhao S. Alternative splicing, "RNA-seq and drug discovery." Drug Discov Today. 2019;24(6):1258-1267. doi:10.1016/j.drudis.2019.03.030
110. Frankiw L, Baltimore D, Li G. "Alternative mRNA splicing in cancer immunotherapy." Nat Rev Immunol. 2019;19(11):675-687. doi:10.1038/s41577-019-0195-7
111. Bertoli-Avella AM, Radefeldt M, Al-Ali R, et al. "Beyond genomics: using RNA-seq from dried blood spots to unlock the clinical relevance of splicing variation in a diagnostic setting." Eur J Hum Genet. 2025;33(5):614-623. doi:10.1038/s41431-025-01792-2
112. Bolger AM, Lohse M, Usadel B. "Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data." Bioinformatics. 2014;30(15):2114-2120. doi:10.1093/bioinformatics/btu170
113. Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK. "edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data." Bioinformatics. 2010;26(1):139-140. doi:10.1093/bioinformatics/btp616
114. Alexa A, Rahnenführer J. "topGO: enrichment analysis for Gene Ontology." R package version 2.62.0. 2025. doi:10.18129/B9.bioc.topGO. https://bioconductor.org/packages/topGO
115. Yu G, Wang LG, Han Y, He QY. "clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters." OMICS. 2012;16(5):284-287. doi:10.1089/omi.2011.0118
116. Jan YH, Heck DE, An Y, Laskin DL, Laskin JD. "Nitrogen Mustard Alkylates and Cross-Links p53 in Human Keratinocytes." Chem Res Toxicol. 2022;35(4):636-650. doi:10.1021/acs.chemrestox.1c00420
117. Dong X, He Y, Hu X, et al. "Targeting LINC00707 by vitamin D3 attenuates nitrogen mustard-caused dermal toxicity through inhibiting ferroptosis." Redox Biol. 2025;83:103628. doi:10.1016/j.redox.2025.103628
118. Horn G, Schäfers C, Thiermann H, et al. "Sulfur mustard single-dose exposure triggers senescence in primary human dermal fibroblasts." Arch Toxicol. 2022;96(11):3053-3066. doi:10.1007/s00204-022-03346-7

ÖZ GEÇMİŞ

I- BİREYSEL BİLGİLER

Adı-Soyadı	: Ahu Pakdemirli
Doğum yeri ve tarihi	:
Uyruğu	:
Medeni durumu	: Evli
Yabancı Dili	: İngilizce

II- Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru)

- Doktora :2018 Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü/ Fizyoloji (Dr)
- Lisans :2002 Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi/ Tıp Fak. (İngilizce)

III- Ünvanları (tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru)

- Öğretim Görevlisi :05.01.2014 DEÜ Sağlık Hizmetleri MYO İlk Ve Acil Yardım Pr.
- Doktor Öğretim Üyesi :11.12.2019 İzmir Demokrasi Üni. Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD
- Doçent :23.09.2020 Üniversiteler Arası Kurul Başkanlığı
- Profesör :02.12.2025 SBÜ İzmir Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD

IV- Mesleki Deneyimi

- 2013-2014 :Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu
- 2014-2019 :Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, İlk ve Acil Yardım Pr.
- 2019-2020 :İzmir Demokrasi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji ABD
- 2020-2022 :Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Tıp Fakültesi, Fizyoloji ABD
- 2022-Halen :Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İzmir Tıp Fakültesi, Fizyoloji ABD

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

1. Sağlık Bilimleri Üniversitesi İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu (Üyelik Başlangıç: Ocak 2026)
2. Sağlık Bilimleri Üniversitesi İzmir Tıp Fakültesi İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Girişimsel Araştırmalar Etik Kurulu (Üyelik Başlangıç: 04.06.2025)
3. Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı (TÜSEB) Türkiye Sağlık Veri Araştırmaları Ve Yapay Zeka Uygulamaları Enstitüsü (Bilim Kurulu Üyesi: 2025), (TÜYZE Görevlendirme: 25.01.2026)
4. Türk Biyokimya Derneği İzmir Şubesi (Üyelik Başlangıç: 02/10/2013)
5. Sağlık Teknikerliği Eğitimi Destekleme Derneği (Üyelik Başlangıç: 15/10/2014)
6. Paramedik Eğitiminde Standardizasyon Ve Akreditasyon Derneği
7. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Mezunları Derneği (Üyelik Başlangıç: 03/01/2018)
8. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği (Üyelik Başlangıç: 28/01/2019)
9. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mezunları Derneği (Üyelik Başlangıç: 27/02/2019)
10. Türkiye Acil Tıp Derneği (Üyelik Başlangıç: 02/03/2019)
11. Uluslararası Sağlıkta Yapay Zeka Derneği (Üyelik Başlangıç: 30/03/2020)
12. Paramedik Ve Hastane Öncesi Acil Tıp Derneği (Üyelik Başlangıç: 18/06/2021)

VI - Bilimsel İlgi Alanları (Yayınları: Ulusal ya da uluslararası makale, bildiri, poster, kitap/kitap bölümü vb.)

Uluslararası ve Ulusal Makaleler:

1. Pakdemirli Ahu (2025). The Dual Faces Of Vesicant Agents: From Chemical Weapon To Chemotherapeutic Agent. Forbes Journal Of Medicine, 6(3), 200-206., Doi: 10.4274/Forbes.Galenos.2025.94547 (Yayın No: 9855408)
2. Ahmadi Ahmad Abed,Erdöl Mehmet Akif,Pakdemirli Ahu,Şafak Yılmaz Esra,Hoe Connie, Welding Kevin, Ergüder Toker, Erdöl Cevdet (2025). Effect Of COVID-19 pandemic on cigarette sales: The case of Türkiye. Turkish Journal of Tobacco Control, 5(5), 1-9., Doi: 10.64511/TJTC.2025.1 (Yayın No: 9745486)
3. Ortatatlı Mesut, Kılıç Zahir, Pakdemirli Ahu, Kenar Levent (2024). Screening Of Asymptomatic COVID-19 Cases from the Aspect of Virus Spread. Acta Clinica Croatica, 63(1), 513-517., Doi: 10.20471/acc.2024.63.03-04.08 (Yayın No: 9745501)
4. Pakdemirli Ahu, Sarper Meral, Güler Kazancı Elif (2023). Effects of Homeopathic Remedies on Mesenchymal Stem Cell Proliferation: A Methodology Study. Journal of Basic and Clinical Health Sciences, 7(1), 507-515., Doi: 10.30621/jbachs.1210789 (Yayın No: 8095337)
5. Gültekin Tuğba, Pakdemirli Ahu, Yenal Sinan (2022). Knowledge of Personal Protective Equipment Use of Senior Paramedic Students Before Graduation During COVID-19 Pandemic Period. Elixir International Journal, 170, 56432-56437. (Yayın No: 8095613)
6. Öztop M. Burak, Pakdemirli Ahu, Orbatu Dilek, Erbaycu Ahmet Emin, Alkan Özdemir Senem, İşbilen Başok Banu, Bitim Semih, Doğan Onur, Türsel Eliiyi Deniz, Er Orhan, Hızıroğlu Kadir, Güler Kazancı Elif, Koç Esra Meltem, Çalıbaşı Koçal Gizem, Öncel Mehmet Yekta, Berktaş Mustafa (2022). The COVID-19 Pandemıc And Artıfıcıal Intellıgence (AI) Applıcatıons In Health: How Much Are We Interested In?. Journal Of Basıc And Clınıcal Health Scıences, 6(3), 913-920., Doi: 10.30621/jbachs.984596 (Yayın No: 8095053)
7. Gültekin Tuğba, Pakdemirli Ahu (2022). Examination on Insomnia Levels and Health Anxiety of Healthcare Technician Students during COVID-19 Pandemic Period. Elixir International Journal, 170, 56438-56442. (Yayın No: 8095510)

8. Hacıoğlu Sabri, Pakdemirli Ahu, Dülger Dilek, Danyer Erdem, Sarı Ümmü Sena, Yıldırım Özcan, Yaralı Cevdet (2022). Isolation of SARS CoV-2 and evaluation of human-animal cases. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi, 33(1), 17-25., Doi: 10.35864/evmd.1113134 (Yayın No: 8096056)
9. Pakdemirli Ahu, Çalişkan Elvin, Hacioğlu Sabri, Danyer Erdem, Kardoğan Özlem, Ergün Kurt Züleyha, Yıldırım Ö, Taşkaya Hakan, Ündar Bora, Sezgin Yasemin, Ergin Gencay, Ekici Himmet, Ülker Ufuk, Taçbaş Erkan, Şahin Çakır Çiğdem, Bülbül Ramazan, Bebek Mustafa, Sarper Meral, Dülger Dilek, Sarı Ümmü Sena, Ergin Fatma, Kabaklı Özden, Yaralı Cevdet (2021). History repeats itself: horse originated hyperimmune sera production against SARS CoV-2. TURKISH JOURNAL OF MEDICAL SCIENCES, 51(5), 2263-2273., Doi: 10.3906/sag-2101-304 (Yayın No: 7524278)
10. Pakdemirli Ahu, Bayram Başak, Güvenç Erkan, Ellidokuz Hülya (2021). Evaluation of ambulance calls for patients over 65 years of age in İzmir, Turkey: a two- year retrospective analysis. Turkısh Journal Of Medıcal Scıences, 51, 1253-1260., Doi: 10.3906/sag-2010-152 (Yayın No: 7169091)
11. Yenal Sinan, Pakdemirli Ahu, Bayram Başak, Direk Tecirli Neşe (2021). Evaluation of socio-demographic factors and attempted suicides in the elderly. Family Practice and Palliative Care, 6(1), 43-48., Doi: 10.22391/fppc.803404 (Yayın No: 7015747)
12. Pakdemirli Ahu, Orbatu Dilek, Alkan Özdemir Senem, Alaygut Demet (2021). Blockchain in Healthcare and Management of COVID-19 Pandemic. Artificial Intelligence Theory and Applications, 1, 20-24. (Yayın No: 7031225)
13. Pakdemirli Ahu, Dülger Dilek (2021). Tarihsel bir biyolojik ajan ve KBRN açısından önemi: Ruam (Glanders) «Burkholderia mallei». Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi, 32(2), 180-186., Doi: 10.35864/evmd.944432 (Yayın No: 7524379)
14. Yenal Sinan, Pakdemirli Ahu, Yenal Kerziban (2020). Knowledge level of nursing home employees on urinary incontinence. Family Practice and Palliative Care, 5(2), 53-57., Doi: https://doi.org/10.22391/fppc.771580 (Yayın No: 6647392)
15. Koca Bennur, Bayram Başak, Pakdemirli Ahu, Bektaş Murat (2020). Psychological effects of Cpr training methods on high school students: a randomized trial. CURRENT PSYCHOLOGY, Doi: https://doi.org/10.1007/s12144-020-01198-x (Yayın No: 6614641)
16. Yenal Sinan, Gültekin Tuğba, Pakdemirli Ahu (2020). Driver Behaviors of 112 Emergency Medical Services Personnel. Eurasian Journal of Emergency Medicine, 19(2), 78-81., Doi: 10.4274/eajem.galenos.2020.90267 (Yayın No: 6308759)
17. Gültekin Tuğba, Yenal Sinan, Pakdemirli AHU (2020). Evaluation of the employment status of graduated paramedics: The case of Turkey. International Invention of Scientific Journal, 4(5), 1152-1159. (Yayın No : 6248945)
18. Eyison Ruşen Koray, Pakdemirli Ahu, Aydın Erkan,Öztürk Ayla Sayın,Kılıç Zahir,Demirbağ Buhar, Ortatatlı Mesut, Sezigen Sermet, Kenar Levent (2020). Evaluation of the Medical Chemical, Biological, Radiological, and Nuclear Awareness Level of Emergency Healthcare Professionals Serving on Different Centres. Journal of Basic and Clinical Health Sciences, 4(2), 174-179., Doi: 10.30621/jbachs.2020.1037 (Yayın No: 6234362)
19. Pakdemirli Ahu, Çalıbaşı Koçal Gizem (2020). TNF-alpha Induces Pro-Inflammatory Factors in Colorectal Cancer Microenvironment. Medical Science and Discovery, 7(4), 466-469. , Doi: 10.36472/msd.v7i4.368 (Yayın No : 6222396)
20. Pakdemirli Ahu, Leblebici Asım (2020). AI in Medicine versus AI in Prehospital. Medicine Science International Medical Journal, 9(2), 293-297. , Doi: 10.5455/medscience.2020.09.9186 (Yayın No : 6146114)
21. Pakdemirli Ahu, Orbatu Dilek, Berksoy Emel (2020). Evaluation of the patients admitted to the pediatricemergency service: Cross-sectional analysis of thepediatric emergency and trauma clinic ofa tertiary training hospital in Turkey. Ulusal Travma ve Acil Cerrahi Dergisi-Turkish Journal of Trauma Emergency Surgery, 26(2), 296-300. , Doi: 10.14744/tjtes.2020.80079 (Yayın No : 6116394)
22. Pakdemirli Ahu, Çalıbaşı Koçal Gizem, Kılınç Gülser, Daşkın Ezgi, Kemaloğlu Hande, Başbınar Yasemin, Ellidokuz Hülya (2020). Salivary Pro-Inflammatory Cytokines and Salivary Bacterial Challenge Effect on Dental Caries: A Clinico-Molecular Cross-Sectional Study. Journal of Basic and Clinical Health Sciences, 4(1), 77-81. , Doi: 10.30621/jbachs.2020.920 (Yayın No : 6019844)
23. Dülger Dilek, Ekici Seda, Albuz Özgür, Pakdemirli Ahu (2020). Investigation of Nasal Staphylococcus aureus carriage in hospital employees and rapid detection of PVL and mecA genes by RT-PCR. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi, 31 (1), 47-51. (Kontrol No : 6265015)
24. Orbatu Dilek, Eğlenoğlu Alaygut Demet, Siviş Zuhal Önder, Pakdemirli Ahu, Malbora Barış (2020). Evaluation of Nutritional Anemia in Middle Eastern Migrantand Refugee Children. Turkish Journal of Pediatric Disease, 14(3), 244-248. (Kontrol No : 6252932)
25. Eyison Ruşen Koray, Pakdemirli Ahu, Sarper Meral, Sezigen Sermet, Kenar Levent (2020). Evaluation of Cytotoxicity of Glutathione Derived β-Lyase Metabolites of Sulfur Mustard on Four Different Types of In Vitro Cell Culture Model. İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi, 24(2), 95-101. (Kontrol No : 6234372)
26. Çalıbaşı Koçal Gizem, Pakdemirli Ahu (2020). Antiproliferative Effects of Carvacrol on Neuroblastoma Cells. İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi Dergisi, 10(1), 61-64. (Kontrol No : 6177031)
27. Pakdemirli Ahu, Orbatu Dilek, Başok Banu, Belet Ümit, Çelebi Aslı, Dündar Bumin Nuri, Emiroğlu Mustafa, Engür Defne, Erdoğan Mihriban, Öncel Mehmet Yekta, Sevinç Süleyman, Süelözgen Tufan, Öztop Mehmet Burak (2020). Sağlıkta Yapay Zeka: Ne Kadar İlgiliyiz?. Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dergisi, 30(), 8-13. (Kontrol No : 6131632)
28. Pakdemirli Ahu, Karaca Caner, Sever Tolga, Daşkın Ezgi, Leblebici Asım, Yiğitbaşı Türkan, Başbınar Yasemin (2019). Carvacrol Alters Soluble Factors in HCT-116 and HT-29 Cell Lines. Turkish Journal of Medical Sciences, 50(1), 271-276. , Doi: 10.3906/sag-1907-173 (Yayın No : 5499957)
29. Kıran Tuğba Raika, Otlu Önder, Karabulut Ercan, Pakdemirli Ahu, Özcan Nermin (2019). Antioxidant effect of grape molasses in rat heart tissues. Medicine Science International Medical Journal, 8(4), 814-819. , Doi: 10.5455/medscience.2019.08.9092 (Yayın No : 5427612)
30. Pakdemirli Ahu, Meço Hanife Eceneur, Karadağ Aslıhan (2019). Uluslararası yayın etkinliklerinin performansı:Türkiye'de 'Fizyoloji' alanı çalışmaları. Sağlık Akademisyenleri Dergisi, 6(2), 136-141. , (Yayın No : 5386360)
31. Pakdemirli Ahu, Toksöz Feriha, Karadağ Aslıhan, Mısırlıoğlu Hüseyin Koray, Başbınar Yasemin, Ellidokuz Hülya, Açıkgöz Osman (2019). Role of mesenchymal stem cell-derived soluble factors and folic acid in wound healing. Turkish Journal Of Medical Sciences, 49(3), 914-921. , Doi: 10.3906/sag-1901-231 (Yayın No : 5386440)
32. Karabulut Ercan, Otlu Önder, Pakdemirli Ahu, Yarım Murat, Salt Ayris, Çenesiz Sena (2019). The Effects of Quercetin on the Fluorosis Toxicity in Kidney of Mice. Journal of Tumour Research Reports, 4(1), 12-15. Doi: 10.35248/tumour-research.19.4.126 (Yayın No : 5386520)

33. Çalıbaşı Koçal Gizem, Pakdemirli Ahu, Bayrak Serdar, Özüpek Nazlı Mert, Sever Tolga, Başbınar Yasemin, Ellidokuz Hülya, Yiğitbaşı Türkan (2019). Curcumin effects on cell proliferation metastasis and angioenesis in colorectal cancer. Journal of BUON, 24(4), 1482-1487. , (Yayın No : 5387297)
34. Başbınar Yasemin, Uysal Tuğba, Karaca Caner, Daşkın Ezgi, Meço Hanife Eceneur, Pakdemirli Ahu, Yiğitbaşı Türkan, Ellidokuz Hülya (2019). Limitations of Cross-Talk Between Osteosarcoma and Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells. Journal of Basic and Clinical Health Sciences, 3(2), 83-88. , Doi: 10.30621/jbachs.2019.611 (Yayın No : 5386226)
35. Pakdemirli Ahu, Toksöz Feriha (2019). Folik Asidin Endotel Hücrelerinde Proliferasyon Üzerine Etkisi. The Journal of Tepecik Education and Research Hospital, 29(1), 86-90. (Kontrol No : 5815561)
36. Pakdemirli Ahu (2019). Overview of Paramedic Quotas at Universities and Number of Health Technician Staff in Turkey Between the Years 2008-2018. Journal of Basic and Clinical Health Sciences, 3(3), 188-192. (Kontrol No : 5386059)
37. Pakdemirli Ahu, Orbatu Dilek, Alkan Özdemir Senem, Alaygut Demet (2021). Blockchain in Healthcare and Management of COVID-19 Pandemic. Artificial Intelligence Theory and Applications, 1(), 20-24. , (Yayın No : 7031225)
38. Pakdemirli Ahu, Dülger Dilek (2021). Tarihsel bir biyolojik ajan ve KBRN açısından önemi: Ruam (Glanders) «Burkholderia mallei». Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi (Uluslararası), 32 (2) , 180-186. , Doi: 10.35864/evmd.944432 (Yayın No : 7524379)
39. Pakdemirli Ahu (2021). Sağlık Çalışanları İçin Kişisel Koruyucu Ekipman Kullanımı. Jinekoloji- Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Dergisi (Ulusal), 18 (2) , 834-839. (Yayın No : 7145582)
40. Engür Defne,Başok Banu İşbilen,Öncel Mehmet Yekta,Belet Ümit,Çelebi Aslı,Bumin Nuri Dündar,Erdoğan Mihriban,Orbatu Dilek,Pakdemirli Ahu,Sevinç Süleyman,Süelözgen Tufan,Öztop Mehmet Burak,Emiroğlu Mustafa (2020). "Uluslararası Sağlıkta Yapay Zeka Kongresi 2020" Kongre Raporu. Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dergisi (Ulusal), 30, 1-7. (Yayın No : 6131368)
41. Pakdemirli Ahu (2018). HASTANE ÖNCESİ RESÜSİTASYONDA ÖLÜM KARARI VE ETİK. Hastane Öncesi Dergisi (Ulusal), 3 (2) , 75-80. (Yayın No : 5387597)
42. Pakdemirli Ahu,Baskın Yasemin,Nart Serdar,Gert Lale,Kuru Deniz,Ellidokuz Hülya (2016). DESEM, Dokuz Eylül University lifelong learning center: Community-based, multilayer training support on lifelong. SHS Web of Conferences (Uluslararası), 26 (1007) , Doi: 10.1051/shsconf/20162601007 (Yayın No : 5388057)
43. Pakdemirli Ahu,Koca Bennur (2016). The importance of vocational ethics in paramedic education, vocational ethics course for paramedics. SHS Web of Conferences (Uluslararası), 26 (1008) (Yayın No : 5387978)
44. Pakdemirli Ahu,Gökdemir Ayhan (2014). Üniversitede Çalışan Hekimler İşyeri Hekimi Olarak Çalışabilirler mi?. Mali Hukuk Dergisi (Ulusal), 29 (170) , 15-17. (Yayın No : 5387861)
45. Pakdemirli Ahu,Gökdemir Ayhan (2014). Üniversite Döner Sermayeleri OSGB İşletebilir mi?. Mali Hukuk Dergisi (Ulusal), 29(171),29-32. (Yayın No : 5387756)

Uluslararası ve Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan Ve Bildiri Kitaplarında (Proceedings) Basılan Bildiriler:

1. Pakdemirli Ahu (2025). KBRN Perspektifinden Çift Kullanımlı Kimyasalların Kritik Önemi. 20.Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi, 1-2. (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:9886497)
2. Pakdemirli Ahu (2025). Yapay Zekadan Ne Bekliyoruz?. 11. Türk Tıp Dünyası Kurultayı (/Davetli Konuşmacı) (Yayın No: 9886504)
3. Pakdemirli Ahu (2025). The Relatıonshıp Between Sulfur Mustard And Cancer. Internatıonal Congress On Health Scıences And Emergency Medıcal Servıces, 997-998. (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 9811270)
4. Pakdemirli Ahu (2025). The Relatıonshıp Between Sulfur Mustard And Cancer Internatıonal Congress On Health Scıences And Emergency Medıcal Servıces, 24-26 Ekim 2025.(Özet Bildiri) (ISBN: 978-9952-8605-3-5)
5. Pakdemirli Ahu, Çalıbaşı Koçal Gizem (2021). Can Gene Silencer miRNAs Be New Generation Biomarkers'. 6th International Hippocrates Congress on Medical and Health Sciences , 13-14, (Özet bildiri) (Yayın No:7066883)
6. Pakdemirli Ahu, Çalıbaşı Koçal Gizem (2021). Current Topic: Biosafety and Biosecurity in Research Laboratories. International Gevher Nesibe Health Sciences Conference-VII, (Özet bildiri) (Yayın No:7065257)
7. Pakdemirli Ahu, Öztop Mehmet Burak (2021). KBRN Olaylarında Radyasyonun Tiroid Kanseriyle İlişkisi. 2nd Internatıonal Applıed Scıence Congress , 40-41, (Özet bildiri) (Yayın No:7168273)
8. Pakdemirli Ahu, Orbatu Dilek, Alkan Özdemir Senem, Kazancı Güler Elif, Eğlenoğlu Alaygut Demet (2021). Triage and artificial intelligence in the COVID 19 pandemic. II. International Congress of Artificial Intelligence in Health , 115-115, (Özet bildiri) (Yayın No:7101209)
9. Pakdemirli Ahu, Çalıbaşı Koçal Gizem (2020). Stem cells and their niche: A critical target to overcome chemotherapeutic resistance. 5th International Hippocrates Congress on Medical and Health Sciences, (Özet bildiri) (Yayın No:6802702)
10. Kazancı Güler Elif, Alkan Özdemir Senem, Orbatu Dilek, Pakdemirli Ahu (2020). Erken Doğan Bebeklerde Kök Hücre ve Rejeneratif Tıbbın Önemi. 5th International Hippocrates Congress on Medical and Health Sciences, (Tam metin bildiri) (Yayın No:6803109)
11. Çalıbaşı Koçal Gizem, Pakdemirli Ahu (2020). 3D organoid culture: A promising ex vivo disease model. 2nd International Medical Congress of Izmir Democracy University, IMCIDU 2020, (Özet bildiri) (Yayın No:6802461)
12. Pakdemirli Ahu, Eyison Ruşen Koray, Ortatatlı Mesut, Sezigen Sermet, Kenar Levent (2020). Covid-19'a Global Bakış. 3rd International Hippocrates Congress on Medical and Health Sciences , 105-106, (Özet bildiri) (Yayın No:6116086)
13. Leblebici Asım, Çalıbaşı Koçal Gizem, Pakdemirli Ahu, Işık Zerrin, Koç Altuğ, Başbınar Yasemin, Ellidokuz Ender Berat (2020). Kolon Kanserinde Alt Tip Transkriptom Veri Analizi. Uluslararası Sağlıkta Yapay Zeka Kongresi 2020 , 22-22, (Özet bildiri) (Yayın No:6040578)
14. Pakdemirli Ahu (2019). Yükselen Trend Ulusal Hakemli Dergiler. MAS 10th International European Conference on Mathematics, Engineering, NaturalMedical Sciences , 9-10, (Özet bildiri) (Yayın No:5594562)
15. Çalıbaşı Koçal Gizem, Pakdemirli Ahu (2019). Tumor Cell Behavior: 3D Cell Culture versus 2D Cell Culture.International Medical Congress of Izmir Democracy University , 567-567, (Özet bildiri) (Yayın No:5594837)
16. Pakdemirli Ahu (2019). Ülkemizdeki Son 10 Tıpta Uzmanlık Sınavında (TUS) Fizyoloji Kontenjanlarının Yeri. Gevher Nesibe 4. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi , 72-73, (Özet bildiri) (Yayın No:5515370)
17. Pakdemirli Ahu (2019). Sayılarla Son Üç Yılda Ülkemizde Tıp, Sağlık ve Multidisipliner Alanlarda Düzenlenen Kongreler. International Symposium on Academic Studies in Health and Sport Sciences , 14-14, (Özet bildiri) (Yayın No:5512688)

18. Pakdemirli Ahu, Dülger Dilek, Şanlıer Nevin, Keleş Nurhan (2019). With the Multidisciplinary Approach "On Current Trends in Medical Nutrition Treatment of Obesity Training Program" Innovative Project Based Application an Example. 5th International Eurasian Congress on Natural Nutrition,Healthy Life Sport, (Tam metin bildiri) (Yayın No:5427430)
19. Pakdemirli Ahu (2019). The Role of Mesenchymal Stem Cells in Wound Healing. 1. Uluslararası 23 Nisan Multidisipliner Çalışmalar Kongresi , 191-196, (Tam metin bildiri) (Yayın No:5388648)
20. Pakdemirli Ahu (2019). Hastane Öncesinde Travmalı Gebe Hastanın Yönetimi. 1. Uluslararası Ahi Evran Tıp ve Sağlık Bilimler Kongresi, (Özet bildiri) (Yayın No:5388902)
21. Pakdemirli Ahu (2019). Ülkemizde Son 10 Yılda Üniversitelerdeki Paramedik Sayılarına Bakış. 2. Uluslararası Bilimsel Çalışmalar Kongresi, (Özet bildiri) (Yayın No:5388680)
22. Pakdemirli Ahu (2019). Türkiye'deki Üniversitelerin Fizyoloji Alanındaki Bilimsel Üretkenlik Analizi. International Hippocrates Congress on Medical and Health Sciences, (Özet bildiri) (Yayın No:5388938)
23. Leblebici Asım, Işık Zerrin, Çalıbaşı Koçal Gizem, Uncu Beste, Yıldırım Nuri, Daşkın Ezgi, Pakdemirli Ahu, Başbınar Yasemin, Ellidokuz Ender Berat (2019). Subtype Analysis of Ovarian Cancer In RNA Sequencing Data. International Hippocrates Congress on Medical And Health Sciences, (Tam metin bildiri) (Yayın No:5388933)
24. Leblebici Asım, Uncu Beste, Çalıbaşı Koçal Gizem, Pakdemirli Ahu, Yıldırım Nuri, Mert Özüpek Nazlı, Karadağ Aslıhan, Ellidokuz Hülya, Başbınar Yasemin (2019). Raw Data Analysis of Piwi-interactive Rnas In Ovarian Cancer. International Hippocrates Congress On Medical And Health Sciences, (Tam metin bildiri) (Yayın No:5388917)
25. Sever Tolga, Pakdemirli Ahu, Koçyiğit Korcan Bartu, Kutluay Bülent Poyraz, Oğuz Serap, Karaca Caner, Ellidokuz Hülya, Başbınar Yasemin (2019). Taraxacum and Metformin Anti-cancer Feature. International Hippocrates Congress on Medical and Health Sciences, (Tam metin bildiri) (Yayın No:5388910)
26. Bayram Başak, Pakdemirli Ahu (2016). Sağlık Eğitiminde Simulasyon: Bibliyometrik Bir Analiz. Utek 2016: IX. Ulusal Tıp Egitimi Kongresi Dokuz Eylül Üniversitesi, (Özet bildiri) (Yayın No:5388951)
27. Pakdemirli Ahu, Baskın Yasemin, Nart Serdar, Gert Lale, Kuru Deniz, Ellidokuz Hülya (2015). Desem, Dokuz Eylul University Lifelonglearning Center: Community-based Multilayer Training Support on Lifelong Learning. Erpa 2015, International Congresses on Education, (Özet bildiri) (Yayın No:5389004)
28. Pakdemirli Ahu, Koca Bennur (2015). The Importance of Vocational Ethics in Paramedic Education, Vocational Ethics Course for Paramedics. ERPA 2015, International Congresses on Education, (Özet bildiri) (Yayın No:5388965)
29. Nart Serdar, Pakdemirli Ahu, Tezel Müjde, Kuru Deniz, Baskın Yasemin, Ellidokuz Hülya (2015). Equal Opportunities for Everyone By E-learning at DESEM, Basic Education certificate Program for Medical and Health Law. 47th Eucen Conferences, (Özet bildiri) (Yayın No:5389001)
30. Güldaş Müge, Pakdemirli Ahu (2015). Paramedik Eğitiminde Sağlık İletişiminin Yeri: Betimsel Bir Ön Çalışma. Sis 2015 Sağlık Eğitimi Sempozyumu, (Özet bildiri) (Yayın No:5388997)

Yazılan ulusal/uluslararası kitaplar, kitap bölümleri ve tercümeler:

1. Ne Yapmalı? - Çocuklar İçin İlkyardım (2021)., Pakdemirli Ahu, Nemesis Kitap, Masalperest Yayınları, Editör: Masalperest Yayınları, Basım sayısı: 6, ISBN: 978-625-7032-47-6, Türkçe (Bilimsel Kitap), (Yayın No: 6989740)
2. KBRN - Kimyasal, Biyolojik, Radyolojik ve Nükleer, Bölüm adı: (Kişisel Koruyucu Ekipmanlar) (2023). Ahu Pakdemirli. EMA Tıp Kitabevi. Editörler: Doçent Doktor Ahu Pakdemirli, Doçent Doktor Sermet Sezigen. ISBN: 978-625-7849-95-1 Türkçe (Bilimsel Kitap),
3. KBRN - Kimyasal, Biyolojik, Radyolojik ve Nükleer, Bölüm adı: (Biyogüvenlik ve Biyoemniyet) (2023). Ahu Pakdemirli. EMA Tıp Kitabevi. Editörler: Doçent Doktor Ahu Pakdemirli, Doçent Doktor Sermet Sezigen. ISBN: 978-625-7849-95-1 Türkçe (Bilimsel Kitap),
4. KBRN - Kimyasal, Biyolojik, Radyolojik ve Nükleer, Bölüm adı: (Sinir Ajanları) (2023). Ahu Pakdemirli. EMA Tıp Kitabevi. Editörler: Doçent Doktor Ahu Pakdemirli, Doçent Doktor Sermet Sezigen. ISBN: 978-625-7849-95-1 Türkçe (Bilimsel Kitap),
5. KBRN - Kimyasal, Biyolojik, Radyolojik ve Nükleer, Bölüm adı: (KBRN Terminolojisine Giriş) (2023). Sermet Sezigen, Ahu Pakdemirli. EMA Tıp Kitabevi Yayıncılık Tic. Ltd. Şti. Editörler: Doçent Doktor Ahu Pakdemirli, Doçent Doktor Sermet Sezigen. ISBN: 978-625-7849-95-1 Türkçe (Bilimsel Kitap),
6. KBRN, Bölüm adı: (Kimyasal Savaş Ajanlarına Yönelik İlk Müdahaleci ve Sağlık Personelinin Eğitimi) (2023). Ahu Pakdemirli. Selçuk Kılıç, Türkiye Klinikleri, Editor: Prof. Dr. Selçuk Kılıç, Basım sayısı: 1. ISBN: 978-625-395-126-9 Türkçe (Bilimsel Kitap),
7. Çocuk Hastalarda COVID 19 Yönetimi, Bölüm adı: (Kişisel Koruyucu Ekipman Kullanımı) (2021). Pakdemirli Ahu, EMA Tıp, Editör: Kazancı Güler Elif, Pakdemirli Ahu, Basım sayısı: 1, ISBN: 978-625-7849-14-2, Türkçe (Bilimsel Kitap), (Yayın No: 7016314)
8. Sağlık Bilimlerinde Yeni Yaklaşımlar, Bölüm adı: (KBRN Savunmasında Güncel Teknolojik Gelişmeler) (2021). Pakdemirli Ahu, Livre De Lyon, Editör: Nizami Duran, Mehmet Okan Donbaloğlu, Basım sayısı: 1, ISBN: 978-2-38236-158-0, Türkçe (Bilimsel Kitap), (Yayın No: 7529439)
9. Sağlık Bilimlerinde Yeni Yaklaşımlar, Bölüm adı: (Biyosavunmada Aşı Üretim Teknolojileri ve Çift Kullanım) (2021).Pakdemirli Ahu, Livre De Lyon, Editör: Nizami Duran, Mehmet Okan Donbaloğlu, Basım sayısı: 1, ISBN: 978-2-38236-158-0, Türkçe (Bilimsel Kitap), (Yayın No: 7529425)
10. Paramedikler için Resüsitasyon Yönetimi, Bölüm adı: (Oksijen Maskeleri) (2020). Pakdemirli Ahu, Hedef Yayıncılık, Editör: Sinan Yenal, Basım sayısı: 1, ISBN: 978-625-7965-14-9, Türkçe (Bilimsel Kitap), (Yayın No: 6116175)
11. Hastane Öncesi Acil Sağlık Hizmetlerinde Travma, Bölüm adı: (Su Kazalarında Hastane Öncesi Acil Bakım) (2020). Pakdemirli Ahu, Ema Tıp Kitabevi, Editör: Ali Ekşi, Süreyya Gümüşsoy, Basım sayısı: 1, ISBN: 978-605- 06114-6-5, Türkçe (Bilimsel Kitap), (Yayın No: 6292914)
12. COVID-19'dan Korunmak için Kişisel Koruyucu Ekipman Kullanımı, Bölüm adı: (Koruyucu Gözlük Ve Yüz Koruyucu (Siperlik) Kullanımı) (2020). Pakdemirli Ahu, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Editör: Levent Kenar, Ahu Pakdemirli, Basım sayısı: 1, ISBN: 978-605-80777-4-4, Türkçe (Bilimsel Kitap), (Yayın No: 6284759)
13. COVID-19'dan Korunmak için Kişisel Koruyucu Ekipman Kullanımı, Bölüm adı: (EL HİJYENİ Ve ELDİVEN KULLANIMI) (2020).Pakdemirli Ahu, Sağlık Bilmleri Üniversitesi, Editör: Levent Kenar, Ahu Pakdemirli, Basım sayısı: 1, ISBN: 978-605-80777-4-4, Türkçe (Bilimsel Kitap), (Yayın No: 6284771)
14. Paramedikler için Resüsitasyon Yönetimi, Bölüm adı: (Oksijen Tedavisi) (2020). Pakdemirli Ahu, Hedef Yayıncılık, Editör: Sinan

Yenal, Basım sayısı: 1, ISBN: 978-625-7965-14-9, Türkçe (Bilimsel Kitap), (Yayın No: 6116198)

15. Yüksekokullar İçin İlk Yardım, Bölüm adı: (Batın Travmasına Yaklaşım) (2018). Pakdemirli Ahu, Yüce Yayım, Editör: Prof. Dr.Berrak Ç. Yeğen, Prof. Dr. Arzu Denizbaşı Altınok, Prof. Dr. Özge Onur, Basım sayısı: 1, ISBN: 978- 975-411-018-0, Türkçe (Bilimsel Kitap), (Yayın No: 5388388)
16. Yüksekokullar İçin İlk Yardım, Bölüm adı: (Kafa Travmasına Yaklaşım) (2018). Pakdemirli Ahu, Yüce Yayım, Editör: Prof. Dr.Berrak Ç. Yeğen, Prof. Dr. Arzu Denizbaşı Altınok, Prof. Dr. Özge Onur, Basım sayısı: 1, ISBN: 978- 975-411-018-0, Türkçe (Bilimsel Kitap), (Yayın No: 5388394)
17. International Pulmonologists consensus on COVID-19 - 2. edition - Turkish version, Uluslararası Göğüs Hastalıkları Uzmanlarının Ortak Görüşü COVID- 19 - 2. Baskı. Bu el kitabı Dr. Tinku Joseph'in yazılı izniyle Türkçe'ye çevrilmiştir., E-kitap, Tercüme, 13/05/2020- 13/05/2020, (Uluslararası)
18. International Pulmonologists consensus on COVID-19 - Turkish version, Göğüs Hastalıkları Uzmanlarının COVID-19 için Uluslararası Ortak Görüşü. Bu el kitabı Dr. Tinku Joseph'in yazılı izni ile çeviri editörleri Dr. Ahu Pakdemirli ve Dr. Sermet Sezigen tarafından Türkçe'ye çevrilmiştir., E-kitap, Tercüme, 05/04/2020-05/04/2020, (Uluslararası)

VII- Bilimsel Etkinlikleri (Aldığı burslar, Ödüller Projeler Patentler, Verdiği konferans ya da seminerler Katıldığı paneller

Ödüller:

- Doktora "Örnek Akademisyen" Teşekkür Belgesi , Dokuz Eylül Üniversitesi , 2018

Projeler

1. Journal of Basic and Clinical Health Sciences (JBACHS) Dergisi COVID-19 Pandemisi Özel Sayısı ve Online Kongre Gerçekleştirme Projesi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, 28/09/2020 – 11/04/2022 (ULUSAL)
2. COVID-19'a Karşı Terapötik Amaçlı Hiperimmun Serum (Antiserum), Diğer kamu kuruluşları (Yükseköğretim Kurumları hariç), Yürütücü, 10/04/2020 – 01/10/2020 (ULUSAL)
3. II. Rekreasyon Terapisi Kampı, Diğer kamu kuruluşları (Yükseköğretim Kurumları hariç), Araştırmacı, 01/06/2014 - 01/06/2014, (ULUSAL)
4. Tükürük Sitokin Profilinin ve Genetik Özelliklerinin Diş Çürümelerine Yatkınlıktaki Rolü, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, 27/05/2014 - 27/05/2014, (ULUSAL)
5. Özel Öğrencilere Yönelik Rekreasyon Terapisi Kampı, Diğer kamu kuruluşları (Yükseköğretim Kurumları hariç), Araştırmacı, 01/06/2013 - 30/06/2013, (ULUSAL)

Patent Başvurusu:

- Patent Başvuu no: 2020/21936 Başvuru Başlığı: COVID-19'a Karşı Terapötik Amaçlı Hipperimmun Antiserum Üretimi. Başvuru Sahibi: Veteriner Kontrol Merkezi Araşt. Enst. Müd. Döner Sermaye İşlet. Buluş Sahipleri: Ahu Pakdemirli, Sabri Hacıoğlu, Erdem Danyer, Elvin Çalışkan, Özleem Kardoğan, Yasemin Sezgin, Özcan Yıldırımi Cevdet Yaralı.

Seminer:

1. Sağlık Bilimleri Üniversitesi İzmir Tıp Fakültesi Bilimsel Toplantıları-1, "Yediden Yetmişe COVID-19", Sağlık Bilimleri Üniversitesi İzmir Tıp Fakültesi Bilimsel Toplantıları-1, "Yediden Yetmişe COVID-19", Sağlık Bilimleri Üniversitesi İzmir Tıp Fakültesi, Seminer, 06/02/2021-06/02/2021, (Ulusal)
2. 4. Uluslararası Koru Gebelik Doğum Lohusalık Kongresi, 4. Uluslararası Koru Gebelik Doğum Lohusalık Kongresi hk., Bolu Koru Hotels, Konuşmalarım, 20/02/2020-23/02/2020, (Uluslararası)
3. XVI. Paramedik Eğitimi Koordinasyon Kurulu Toplantısı ve Paramedik Eğitimi Sempozyumu, XVI. Paramedik Eğitimi Koordinasyon Kurulu Toplantısı ve Paramedik Eğitimi Hakkında, Haliç Üniversitesi, İstanbul, Konuşmalarım, 12/10/2019-13/10/2019, (Ulusal)
4. Emzirmenin Anne ve Bebek Sağlığı Konulu Sempozyum, Emzirmenin Anne ve Bebek Sağlığı hk., Ankara Şehir Hastanesinde, Konuşmalarım, 07/10/2019-07/10/2019, (Ulusal)
5. Healthy Life and Sport, 5th International Eurasian Congress on Natural Nutrition, Healthy Life and Sport, Gazi Üniversitesi, Konuşmalarım, 02/10/2019-06/10/2019, (Uluslararası)
6. 1. Uluslararası 23 Nisan Multidisipliner Çalışmalar Kongresi, 1. Uluslararası 23 Nisan Multidisipliner Çalışmalar Kongresi hk., Alba Hotel, Konuşmalarım, 20/04/2019-23/04/2019, (Uluslararası)
7. Kadın, Sağlık ve Kalite Sempozyumu, İş Hayatı ve Gebelik, Malatya Turgut Özal Üniversitesi Kongre Salonu, Konuşmalarım, 13/03/2019-13/03/2019, (Ulusal)
8. Kadın ve Sağlık Buluşması, Kadın ve Sağlık Buluşması hk., Kocatepe Kültür Merkezi, Konuşmalarım, 09/03/2019- 09/03/2019, (Ulusal)
9. Engelleri Kaldıran Yaşamlar, 3 Aralık Dünya Engelliler Günü Etkinliği, İzmir, Konuşmalarım, 03/12/2018-03/12/2018, (Ulusal)
10. 2015 Resüsitasyon Kılavuzlarının Hastane Öncesi Uygulamalarına Yansımaları, 2015 Resüsitasyon Kılavuzlarının Hastane Öncesi Uygulamalarına Yansımaları hk., İzmir, Konuşmalarım, 26/02/2016-26/03/2016, (Ulusal)
11. KKTC, KKTC, Doğu Akdeniz Üniversitesi, Seminer, 30/05/2016-30/05/2016, (Uluslararası)
12. KKTC, KKTC, Doğu Akdeniz Üniversitesi, Seminer, 26/05/2016-27/05/2016, (Uluslararası)
13. KKTC, KKTC, Doğu Akdeniz Üniversitesi, Seminer, 12/05/2016-15/05/2016, (Uluslararası)
14. KKTC, KKTC, Doğu Akdeniz Üniversitesi, Seminer, 04/01/2016-06/02/2016, (Uluslararası)
15. KKTC, KKTC, Doğu Akdeniz Üniversitesi, Seminer, 19/11/2015-19/11/2015, (Uluslararası)
16. 7. Kariyer Günleri, 7. Kariyer Günleri hk., Ege Üniversitesi, Konuşmalarım, 18/11/2015-18/11/2015, (Ulusal)
17. Sağlık Bilimleri Enstitüleri Lisansüstü Öğrenci Kongresi ve Kök Hücre Sempozyumu, Sağlık Bilimleri Enstitüleri Lisansüstü Öğrenci Kongresi ve Kök Hücre Sempozyumu hk., CBÜ, Konuşmalarım, 17/04/2014-20/04/2014, (Ulusal)
18. 5.Kariyer Günleri, 5.Kariyer Günleri hk., Ege Üniversitesi, Konuşmalarım, 21/11/2012-22/11/2013, (Ulusal)

VIII- Diğer Bilgiler (Eğitim programı haricinde aldığı kurslar ve katıldığı eğitim seminerleri)

Alan ve Dil Editörlükleri:

1. Turkish Journal of Medical Sciences (SCI-Expanded), Dergi, , TUBİTAK ULAKBİM
2. Gülhane Medical Journal (Scopus), Dergi, , University of Health Sciences Turkey
3. Forbes Tıp Dergisi (TR DİZİN), Dergi, Yrd. Editör, İzmir Buca Seyfi Demirsoy Eğitim ve Araştırma Hastanesi
4. Jinekoloji-Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Dergisi (TR DİZİN), Dergi, Yayın Kurulu Üyeliği, T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Şehir Hastanesi
5. Journal of Basic and Clinical Health Sciences (ESCI), Dergi, Yrd. Editör, BAYT Bilimsel AraştırmalarBasın Yayın ve Tanıtım Ltd. Şti.
6. 22. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi Tam Metin Kitabı (Endekste taranmıyor), Diğer Yayınlar, Editör, Asos Yayınevi ISBN: 978-625-8190-47-2 Aralık 2022
7. KBRN - Kimyasal, Biyolojik, Radyolojik ve Nükleer, EMA Tıp Kitabevi. EDİTÖRLER: Doçent Doktor Ahu PAKDEMİRLİ, Doçent Doktor Sermet SEZİGEN. ISBN: 978-625-7849-95-1 Türkçe (Bilimsel Kitap)
8. COVID-19'dan Korunmak için Kişisel Koruyucu Ekipman Kullanımı, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Editör: Levent Kenar, Ahu Pakdemirli, Basım sayısı: 1, ISBN: 978-605-80777-4-4, Türkçe (Bilimsel Kitap), (Yayın No: 6284759) 15/06/2020
9. Çocuk Hastalarda COVID 19 Yönetimi, (2021). ,PAKDEMİRLİ AHU, Ema Tıp, Editör: Kazancı Güler Elif, Pakdemirli Ahu, Basım sayısı: 1, ISBN: 978-625-7849-14-2, Türkçe (Bilimsel Kitap), (Yayın No: 7016314)
10. Uluslararası Göğüs Hastalıkları Uzmanlarının Ortak Görüşü COVID-19 (Endekste taranmıyor), , Editör, Elektronik kitap
11. Göğüs Hastalıklari Uzmanlarının COVID-19 için Uluslararası Ortak Görüşü, , Editör, Elektronik
12. 5. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi Tam Metin Kitabı (Endekste taranmıyor), Diğer Yayınlar, Editör, Asos Yayınevi
13. 5. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi Bildiri Özetleri Kitabı (Endekste taranmıyor), Diğer Yayınlar, Editör, Asos Yayınevi
14. 4. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi Tam Metin Kitabı (Endekste taranmıyor), Diğer Yayınlar, Editör, Asos Yayınevi , 25/09/2020
15. Dokuz Eylül Üniversitesi Araştırma ve İnovasyon Dergisi, Dergi, Yrd. Editör, DEU Matbaası
16. People Mag, Dergi, Editör, Gülermat Matbaacılık
17. Sade, Dergi, Editör, DEÜ Matbaası
18. Hastane Öncesi Dergisi, Dergi, Yrd. Editör, PESAD

Raporlar:

- Jüri Raporu, "Fatih Kalkan", Doktora Tez Savunması Jüri Üyeliği, SBÜ Gülhane Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD, Rapor, 08/06/2020-08/06/2020, (Ulusal)

Çalıştay:

1. TÜSEB Türkiye Sağlık Veri Araştırmaları ve Yapay Zeka Enstitüsü (TÜYZE), Sağlık Verilerinin Güvenli Toplanması ve Paylaşımı Çalıştayı 4 Ekim 2025, İstanbul. (Ulusal)
2. Orpheus Virtual Workshop on PhD Supervision in Biomedicine and Health Sciences, Orpheus Virtual Workshop on PhD Supervision in Biomedicine and Health Sciences, DEÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Çalıştay, 11/03/2021-11/03/2021, (Ulusal)
3. Uluslararası Doktor Behçet Uz Çocuk Kongresi, Swissotel Büyük Efes İzmir, Çalıştay, 04/03/2020-07/03/2020, (Uluslararası)
4. Memede Radyolojik Görüntüleme Emzirmenin Meme Kanseri Üzerine Etkileri, Memede Radyolojik Görüntüleme Emzirmenin Meme Kanseri Üzerine Etkileri hk., Ankara Şehir Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastanesi, Çalıştay, 06/03/2020-06/03/2020, (Ulusal)
5. Yara Bakımına Güncel Bakış, Yara Bakımına Güncel Bakış hk., 29 Mayıs Devlet Hastanesi, Çalıştay, 24/02/2020- 24/02/2020, (Ulusal)
6. Paramedik Günü Etkinliği, Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Paramedik Günü Etkinliği, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurucu Öğretim Üyeleri Konferans Salonu, Çalıştay, 23/12/2019-23/12/2019, (Ulusal)
7. II. Uluslararası KBRN Kongresi, II. Uluslararası KBRN Kongresi, AFAD Convention Hall, Çalıştay, 27/11/2019- 29/11/2019, (Uluslararası)
8. METÜM Günleri, Gülhane Medikal Tasarım ve Üretim Uygulama ve Araştırma Merkezi Günleri, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Külliyesi, Çalıştay, 28/11/2019-29/11/2019, (Ulusal)
9. 7. Ulusal Açık Bilim Konferansı ve Openaıre Advance Projesi Çalıştayı, 7. Ulusal Açık Bilim Konferansı ve Openaıre Advance Projesi Çalıştayı hk., E.Ü. Atatürk Kültür Merkezi, Çalıştay, 19/11/2019-20/11/2019, (Ulusal)
10. VI. Türk Tıp Dünyası Kurultayı, Biyoteknoloji, Renaissance Polat İstanbul Hoteli, Çalıştay, 29/10/2019-31/10/2019, (Uluslararası)
11. Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Sempozyumu, Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Sempozyumu hk., Ankara Şehir Hastanesi İdari Bina 2. Kat Toplantı Salonu, Çalıştay, 18/09/2019-18/09/2019, (Ulusal)
12. Herkes Sussun Kadınlar Konuşsun, Herkes Sussun Kadınlar Konuşsun hk., T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çalıştay, 08/03/2019-08/03/2019, (Ulusal)
13. International Traditional And Complementary Medicine Congress, International Traditional And Complementary Medicine Congress hk., İstanbul Kongre Merkezi, Çalıştay, 19/04/2018-22/04/2018, (Uluslararası)
14. Paramedikler Günü, Paramedikler Günü hk., İzmir, Çalıştay, 22/12/2016-22/12/2016, (Ulusal)
15. XIV. Paramedik Eğitimi Koodinasyon Kurulu Toplantısı, XIV. Paramedik Eğitimi Koodinasyon Kurulu Toplantısı hk., Manisa CBÜ, Çalıştay, 13/10/2016-14/10/2016, (Ulusal)
16. 17. Pediatri Günleri, 17. Pediatri Günleri hk., Balçova, Çalıştay, 10/03/2016-11/03/2016, (Ulusal)
17. Türkiye In Vıtro Diyagnostik, Türkiye In Vıtro Diyagnostik hk., Kaya Termal Otel Kongre Merkezi, Çalıştay, 18/02/2016-20/02/2016, (Ulusal)
18. Meslek Hastalıkları Tanı Sürecinde İşyeri Hekimliği hk., Meslek Hastalıkları Tanı Sürecinde İşyeri Hekimliği hk., İzmir, Çalıştay, 13/02/2016-13/02/2016, (Ulusal)

19. Hastane Öncesi Travma Sempozyumu, 1. Hastane Öncesi Travma Sempozyumu hk., Acıbadem Üniversitesi, Çalıştay, 18/05/2015-18/05/2015, (Ulusal)
20. Multimedia Support For Teaching And Learning, Multimedia Support For Teaching And Learning hk., Hilton, Çalıştay, 04/06/2014-04/06/2014, (Uluslararası)
21. 15.Pediatri Günleri, 15.Pediatri Günleri hk., Dokuz Eylül Üniversitesi, Çalıştay, 03/04/2014-04/04/2014, (Ulusal)
22. Avrupa Üniversiteler Birliği Doktora Eğitim Çalıştayı, Avrupa Üniversiteler Birliği Doktora Eğitimi hk, Dokuz Eylül Üniversitesi, Çalıştay, 23/01/2014-24/01/2014, (Ulusal)
23. Bilimde Etik, Bilimde Etik, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çalıştay, 04/11/2013-04/11/2013, (Ulusal)
24. XXV. Ulusal Biyokimya Kongresi, XXV. Ulusal Biyokimya Kongresi hk., Kaya Otel, Çalıştay, 03/09/2013-06/10/2013, (Ulusal)
25. Geriatri Günleri, Geriatri Günleri, Dokuz Eylül Üniversitesi, Çalıştay, 30/09/2013-01/10/2013, (Ulusal)
26. How To Publish A Scientific Journal Article, How To Publish A Scientific Journal Article hk., Dokuz Eylül Ünivesitesi, Çalıştay, 30/05/2013-30/05/2013, (Uluslararası)
27. 11. Ulusal Sinirbilim Kongresi, 11. Ulusal Sinirbilim Kongresi hk., Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çalıştay, 28/04/2013- 01/05/2013, (Ulusal)
28. Trends In Undergraduate Science Education Tips For Postgraduate Students And Beyond, Trends In Undergraduate Science Education Tips For Postgraduate Students And Beyond hk., Kaya Otel, Çalıştay, 29/03/2012-30/05/2012, (Ulusal)
29. Ulusal Cerrahi Kongresi, 18. Ulusal Cerrahi Kongresi hk., Kaya Otel, Çalıştay, 23/05/2012-27/05/2012, (Ulusal)

Kongre Düzenleme (Düzenleme Kurulu/Bilim Kurulu/Oturum Başkanlığı):

1. Ulusal Bilim Kurulu Üyeliği TÜSEB Türkiye Sağlık Veri Araştırmaları ve Yapay Zeka Uygulamaları Enstitüsü 2025
2. Uluslararası Oturum Başkanlığı SBU İzmir Tıp Fakültesi Pediatri Kongresi 5-6 Eylül 2025
3. Uluslararası Oturum Başkanlığı Türkiye Acil Tıp Derneği Türkiye Acil Sağlık Hizmetleri Kongresi 7-9- Şubat 2025
4. Uluslararası Düzenleme Komitesi Üyeliği IV. Uluslararası Sağlıkta Yapay Zekâ Kongresi 15-17 Kasım 2024
5. Uluslararası Oturum Başkanlığ 1. İzmir Çocuk Kongresi (İzÇoK 2024) 09 - 11 Mayıs 2024
6. Uluslararası Bilim Kurulu Üyeliği 1. İzmir Çocuk Kongresi (İzÇoK 2024) 09 - 11 Mayıs 2024
7. Uluslararası Düzenleme Komitesi Üyeliği 12. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi 1-2 Eylül 2023
8. Uluslararası Bilim Kurulu Üyeliği 12. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi 1-2 Eylül 2023
9. Uluslararası Bilim Kurulu Üyeliği 11. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi 3-4 Mart 2023
10. Uluslararası Düzenleme Komitesi Üyeliği 11. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi 3-4 Mart 2023
11. Uluslararası Bilim Kurulu Üyeliği 10. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi 16-17 Aralık 2022
12. Uluslararası Düzenleme Komitesi Üyeliği 10. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi 16-17 Aralık 2022
13. Uluslararası Oturum Başkanlığı 2nd International Applied Science Congress, 20.06.2021
14. Uluslararası Oturum Başkanlığı Black Sea Summit, 6th International Social Sciences Congress, 05.06.202-06.06.2021
15. Uluslararası Düzenleme Komitesi Üyeliği 9. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi 9-10 Ekim 2022
16. Uluslararası Bilim Kurulu Üyeliği 7. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi 3 - 4 Eylül 2021
17. Uluslararası Bilim Kurulu Üyeliği 6. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi 30 Nisan - 1 Mayıs 2021
18. Uluslararası Düzenleme Komitesi Üyeliği II. International Congress of Artificial Intelligence in Health, 16-18 Nisan 2021
19. Uluslararası Bilim Kurulu Üyeliği International Gevher Nesibe Health Sciences Conference-VII, 16.04.2021-17.04.2021
20. Uluslararası Bilim Kurulu Üyeliği 2. Uluslararası Etik Kongresi, ISPEC, 5-6 Şubat 2021
21. Uluslararası Düzenleme Komitesi Üyeliği COVID-19 Pandemisinde Araştırma-Yayın ve Eğitim Süreçlerine Bakış Kongresi, Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 15.01.2021-16.01.2021 (Kongre Başkanlığı)
22. Uluslararası 2nd International Medical Congress of Izmir Democracy University, IMCIDU 2020, İzmir, Türkiye
23. Uluslararası Oturum Başkanlığı 2. Uluslararası Doktor Behçet Uz Çocuk Kongresi. 04.03.2020-07.03.2020
24. Uluslararası Bilim Kurulu Üyeliği5. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi 18-19 Aralık 2020
25. Uluslararası Bilim Kurulu Üyeliği 4. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi 25-26 Eylül 2020
26. Uluslararası Bilim Kurulu Üyeliği XVII. Paramedik Eğitimi Koordinasyon Kurulu Toplantısı ve 1.Uluslararası Paramedik Eğitimi Sempozyumu, 24.09.2020
27. Uluslararası Bilim Kurulu Üyeliği 1. Uluslararası Etik Kongresi, Ankara, Türkiye, 02.05.2020-03.05.2020
28. Uluslararası Düzenleme Komitesi Üyeliği 3. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi 6-7 Mart 2020
29. Uluslararası Düzenleme Komitesi Üyeliği Uluslararası Sağlıkta Yapay Zekâ Kongresi 2020, Kaya İzmir Thermal and Convention, 16.01.2020-18.01.2020
30. Uluslararası Bilim Kurulu Üyeliği ISPEC 5th International Conference On Engineering Natural Sciences, Hilton Double Tree Hotel, Van. 20.12.2019-22.12.2019
31. Uluslararası Bilim Kurulu Üyeliği BİLTEK Uluslararası Bilim, Teknoloji ve Sosyal Bilimlerde Güncel Gelişmeler Sempozyumu. Ankara. 20.12.2019-22.12.2019
32. Uluslararası Bilim Kurulu Üyeliği MAS 10th International European Conference on Mathematics, Engineering, Natural Medical Sciences. İzmir. 14.12.2019-15.12.2019
33. Uluslararası Bilim Kurulu Üyeliği Gevher Nesibe 4. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi, Hotel İçkale, 23.11.2019-24.11.2019
34. Uluslararası Oturum Başkanı 2. Uluslararası Kanser ve İyon Kanalları Kongresi, Wyndham Grand Özdilek/İzmir, 22.09.2019-24.09.2019
35. Ulusal Düzenleme Komitesi Üyeliği Gençlik Haftası Çalıştayı, DEÜ Tıp Faültesi Dekanlık Binası 4. Kat Konferans Salonu, 17.05.2019-17.05.2019
36. Ulusal Düzenleme Komitesi Üyeliği Birinci Basamakta Kansere Güncel Yaklaşım Sempozyumu, Sabancı Kültür Merkezi, Konak, 10.04.2019-10.04.2019
37. Ulusal Bilim Kurulu Üyeliği Kadın, Sağlık ve Kalite Sempozyumu, Malatya Turgut Özal Üniversitesi Konferans Salonu, 13.03.2019-13.03.2019
38. Uluslararası Bilim Kurulu Üyeliği XV. Paramedik Eğitimi Koordinasyon Kurulu Toplantısı ve Hastane Öncesi Travma ve Görüntüleme Sempozyumu, Karatay Üniversitesi, Konya, 30.11.2018-02.12.2018

39. Ulusal Düzenleme Komitesi Üyeliği Danışmanlık Eğitim Çalıştayı, Dokuz Eylül Üniversitesi, 16.06.2014-17.06.2014 ve 12.11.2014
40. Ulusal Düzenleme Komitesi Üyeliği Sağlıkta İnovasyon Üniversiteden Sanayiye, Dokuz Eylül Üniversitesi, Kurucu Öğretim Üyeleri Konferans Salonu, İnciraltı, 16.05.2013-17.05.2013

Kurslar:

1. Hücre Kültürüne Dayalı Üretim Teknikleri, Hücre Kültürüne Dayalı Üretim Teknikleri, Sabancı Üniversitesi, Kurs, 11/02/2021-15/04/2021, (Ulusal)
2. Sağlık Alanında Uygulamalı Spss, Sağlık Alanında Uygulamalı Spss hk., DEÜ Tıp Fakültesi, Kurs, 30/03/2016- 31/03/2016, (Ulusal)
3. Klinik Araştırmalar ve Etik Kurullara Başvuru İlkeleri, Klinik Araştırmalar ve Etik Kurullara Başvuru İlkeleri hk., Balçova, Kurs, 17/03/2016-18/03/2016, (Ulusal)
4. İleri Ekg, İleri Ekg hk., İzmir, Kurs, 03/03/2016-04/03/2016, (Ulusal)
5. Acil Travma Yönetimi, Acil Travma Yönetimi hk., İzmir, Kurs, 24/02/2016-26/02/2016, (Ulusal)
6. İleri Kardiyak Yaşam Desteği Kursu, 45. İleri Kardiyak Yaşam Desteği Kursu hk., İstanbul, Kurs, 12/12/2015- 13/12/2015, (Ulusal)
7. Çocuklarda Ileri Yaşam Desteği Eğitimi, Çocuklarda Ileri Yaşam Desteği Eğitimi hk., Ege Üniversitesi, Kurs, 01/12/2015-02/12/2015, (Ulusal)
8. Probleme Dayalı Öğrenim, Probleme Dayalı Öğrenim kursu, DEÜ Tıp Fakültesi, Kurs, 12/10/2015-16/11/2015, (Ulusal)
9. Ölçme Değerlendirme, Ölçme Değerlendirme Kursu, DEÜ Sağlık Hizmetleri MYO, Kurs, 03/08/2015-04/11/2015, (Ulusal)
10. XXV.Ulusal Biyokimya Kongresi ”Klinik Laboratuarlarda Elektroforez Uygulamaları Kursu, XXV.Ulusal Biyokimya Kongresi ”Klinik Laboratuarlarda Elektroforez Uygulamaları Kursu hk., Kaya Otel, Kurs, 03/09/2013-06/10/2013, (Ulusal)
11. Sitoredüktif Cerrahi(Src) ve Hipotermik İntraperitoneal Kemoterapi(Hipek) ”, Sitoredüktif Cerrahi(Src) ve Hipotermik İntraperitoneal Kemoterapi(Hipek) Kursu, Kaya Otel, Kurs, 23/05/2012-23/05/2012, (Ulusal)
12. Birinci Basamak Hekimlerine Yönelik Kanser Hastalıkları, Birinci Basamak Hekimlerine Yönelik Kanser Hastalıkları Kursu, Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, Kurs, 05/04/2012-06/05/2012, (Ulusal)

Sertifikalar:

1. Aromaterapi Yağları ile Şifalı Parfüm Eğitimi, Aromaterapi Yağları ile Şifalı Parfüm Eğitimi, HerbaFarm Akademi, Sertifika, 10/04/2021-10/04/2021, (Ulusal)
2. Orpheus Virtual Workshop on PhD Supervision in Biomedicine and Health Sciences, PhD Supervision in Biomedicine and Health Sciences, DEÜ Health Sciences Institute, Sertifika, 11/03/2021-11/03/2021, (Ulusal)
3. Chemical Security Fundamantels Training for Turkish Academia, Chemical Security Fundamantels Training, Online, Sertifika, 15/12/2020-16/12/2020, (Ulusal)
4. Yaz İçin Aromaterapi Eğitimi, Yaz İçin Aromaterapi Eğitimi, HerbaFarm Akademi, Sertifika, 20/06/2020-20/06/2020, (Ulusal)
5. GLP İyi Laboratuvar Uygulamaları Sertifikası, GLP İyi Laboratuvar Uygulamaları Sertifikası, Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Yaşam Boyu Eğitim Uygulama ve Araştırma Merkezi, Sertifika, 14/04/2020-14/05/2020, (Ulusal)
6. İleri İyi Klinik Uygulamalar, İleri İyi Klinik Uygulamalar, Klinik Araştırmalar Derneği, Sertifika, 14/04/2020- 09/05/2020, (Ulusal)
7. Temel İyi Klinik Uygulamalar (Ver 2.0), Temel İyi Klinik Uygulamalar, Klinik Araştırmalar Derneğ, Sertifika, 14/04/2020-30/04/2020, (Ulusal)
8. Good Medical Researcher, Good Medical Researcher, MedisRes, Sertifika, 07/12/2020-, (Uluslararası)
9. Dalıcı Diploması, Türkiye Sualtı Sporları, Cankurtarma, Sukayağı ve Paletli Yüzme Federasyonu, T.C. Başbakanlık Gençllik ve Spor Genel Müdürlüğü, Sertifika, 02/01/2000-, (Ulusal)
10. NAHA Certified Level 1 Aromatherapist, NAHA Certified Level 1 Aromatherapist, National Association for Holistic Aromatherapy, Sertifika, 11/05/2020-, (Uluslararası)
11. Aromaterapiye Giriş Eğitimi, Aromaterapiye Giriş Eğitimi, HerbaFarm Akademi, Sertifika, 21/04/2020-22/04/2020, (Ulusal)
12. BSL-3 Laboratuvarında Biyogüvenlik ve Biyoemniyet Sertifikası, BSL-3 Laboratuvarında Biyogüvenlik ve Biyoemniyet Sertifikası, Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Ensititüsü Müdürlüğü, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Sertifika, 26/03/2020-27/03/2020, (Ulusal)
13. Türkiye Sualtı Sporları Federasyonu, 2 Yıldız Dalıcı, 2 Yıldız Dalıcı Sertifikası, 300 BAR DIVE CENTER, Sertifika, 11/08/2020-(Ulusal)
14. Kısa Mesafe Telsiz Operatörü Yeterlik Belgesi, Kısa Mesafe Telsiz Operatörü Yeterlik Belgesi hk., Ulaştırma ve Altyapı Bakanlığı Deniz ve İçsular Düzenleme Müd., Sertifika, 08/11/2019-, (Ulusal)
15. Homeopati Uygulama Sertifikası, Homeopati Uygulama Sertifikası, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Sertifika, 27/04/2018-28/12/2019, (Ulusal)
16. Deney Hayvanı Kullanımı, Deney Hayvanı Kullanımı hk., Dokuz Eylül Üniversitesi, Sertifika, 15/07/2013-15/09/2013, (Ulusal)
17. İlkyardım Eğitmeni, Kızılay İzmir Şubesi İlkyardım Eğitici Eğitim Merkezi, İl Sağlık Müdürlüğü, Sertifika, 26/08/2013-03/09/2013, (Ulusal)
18. İlkyardımcı Sertifikası, Kızılay İzmir Şubesi İlkyardım Eğitim Merkezi, İl Sağlık Müdürlüğü, Sertifika, 26/08/2013- 27/08/2013, (Ulusal)
19. Amatör Denizci Belgesi, Türkiye Cumhuriyeti Başbakanlık Denizcilik Müsteşarlığı Amatör Denizci Belgesi, İzmir Bölge Müdürlüğü, Sertifika, 10/10/2011-, (Ulusal)
20. Aile Hekimliği 1. Aşama Uyum Eğitimi, Aile Hekimliği 1. Aşama Uyum Eğitimi Sertifikası, Mardin, Sertifika, 20/08/2009-26/08/2009, (Ulusal)