

Biyokimyada Güncel Gelişmeler

Editor
Öğünç MERAL

BİDGE Yayınları

Biyokimyada Güncel Gelişmeler

Editör: Doç. Dr. Öğünç MERAL

ISBN: 978-625-372-376-7

1. Baskı

Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL

Yayınlama Tarihi: 25.12.2024

BİDGE Yayınları

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

Sertifika No: 71374

Yayın hakları © BİDGE Yayınları

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

Krc Bilişim Ticaret ve Organizasyon Ltd. Şti.

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



Content

Oksidatif Stres ve Yaşlanma	4
Burcu Menekşe BALKAN	4
Obezite ve İrisin	22
Hanife Nur ÇUVAL	22
Yeliz KAYA KARTAL ²	22
Tevhide SEL ³	22
Ubikitin-Proteozom Sistemi, Kanseri ile İlişkisi ve Proteozom İnhibitörleri	43
Işılay ÇEŞMEBAŞI	43
Yeliz KAYA KARTAL ²	43
Tevhide SEL ³	43
Biological Roles of Glycans	64
Öğünç MERAL	64
Hamdi UYSAL	64
Biological Functions of Animal Lectins	73
Öğünç MERAL	73
Hamdi UYSAL	73

BÖLÜM I

Oksidatif Stres ve Yaşlanma

Burcu Menekşe BALKAN¹

Giriş

İlaç sektöründeki bilimsel gelişmeler ve yaşam kalitesini artıran daha iyi yaşam koşulları sayesinde, sağlıklı bir kişinin yaşam süresini 80 yıla çıkarmıştır (Brown, 2015). Dünya çapında yaşlanan nüfus (65 yaş üstü) 2010 yılında 576 milyona ulaşmışken, 2050 yılında bu sayının 1,5 milyara çıkacağı tahmin edilmektedir (United Nations, 2019).

Yaşlanma, kademeli, sürekli artan hücre hasarı, hücre fonksiyonlarının kademeli olarak azalması, vücuttaki doku ve organ fonksiyonlarının zamanla bozulması, hatta kaybolması ve ilerleyici işlevsel düşüş ve hastalıklara karşı artan duyarlılık ve hassasiyet ile karakterize dinamik, zamana bağlı bir süreçtir (Mas-Bargues & ark., 2021; Valavanidis, Vlachogianni & Fiotakis, 2012). Ayrıca yaşlanma, kanser, tip 2 diabetes mellitus ve kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi birden fazla yaşa bağlı hastalığın

¹ Doç. Dr., Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Burdur/Türkiye, Orcid: 0000-0002-0206-6455, bmbalkan@mehmetakif.edu.tr

başlangıcı ve ilerlemesiyle yakından bağlantılıdır (Finkel, Serrano & Blasco, 2007).

Aktif bir araştırma alanı olan yaşlanma, tüm organizmalar arasında nispeten iyi korunmuş bir süreç olmasına rağmen, altta yatan moleküler mekanizmalar türler arasında farklılık gösterir (Xu & Tahara, 2013; Deschênes & Chabot, 2017; Magalhães, Goodfellow & Nunes, 2018; Jazbec & ark., 2019; Warraich, Hussain & Kayani, 2020). Hem genetik hem de çevresel faktörlerin yaşlanma sürecine değişken bir şekilde katkıda bulunduğu görülmekle birlikte, çevresel faktörler yaşlanma sürecini daha fazla etkilemektedir (Valavanidis & ark., 2012).

Yaşlanma sürecinin, yaşlanmanın ayırt edici özellikleri olarak bilinen birkaç temel moleküler değişiklikten kaynaklandığı varsayılmaktadır. Bunlar dört birincil özellik olan genomik instabilite, telomer aşınması, epigenetik değişiklikler ve proteostaz kaybı, üç antagonistik özellik olan düzensiz besin algılama, mitokondriyal işlev bozukluğu ve hücre yaşlanma ve iki bütünleştirici özellik olan kök hücre tükenmesi ve hücreler arası iletişimin değişmesidir (López-Otín & ark., 2013).

Hayflick & Moorhead, (1961), hücre çoğalmasının sınırsız olmadığını keşfettiler ve belirli sayıda bölünmeye ulaşıldıktan sonra hücre bölünmesinin durduğunu varsayan "Hayflick sınırı" olarak bilinen kavramı ortaya attılar. Sonrasında önerilen "Hücre senesens", başlangıçta hücre kültürlerinde seri pasajlamadan sonra bölünmeyi durduran hücrelerin çoğalma kapasitesinin geri dönüşümsüz kaybını tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Senesent hücreler, sekretom değişiklikleri de dahil olmak üzere değişikliklere uğrar ve yaşlanmanın başlaması ve ilerlemesinde önemli bir rol oynar (Jeyapalan & ark., 2007; Wang & ark., 2009). Ayrıca, yaşlanmaya neden olan uyaranların yaşla birlikte arttığı gösterilmiştir (Baker & ark., 2004; Faggioli & ark., 2012). Oksidatif stres kaynaklı yaşlanmanın kesin mekanizması hala net değildir, ancak muhtemelen artan reaktif oksijen türleri (ROS) seviyeleri, replikasyon sırasında oluşan hasarlara yanıt olarak hücre senesens çoğalmayı durduran fizyolojik bir mekanizma olan hücre senesens

senesense yol açar. Senesent hücreler, çözünür faktörlerin (interlökinler, kemokinler ve büyüme faktörleri), matriks metalloproteazlar gibi yıkıcı enzimlerin ve çözünmeyen proteinlerin/hücre dışı matriks bileşenlerinin salgılanmasını içeren geri döndürülemez senesensle ilişkili salgılayıcı bir fenotip kazanır (Chandrasekaran, Idelchik & Melendez, 2017; Pole, Dimri & Dimri, 2016). ROS, senesensle ilişkili salgılayıcı fenotipin çeşitli bileşenleri üzerinde etki ederek hücrel yaşlanmayı başlatır (Liguori & ark., 2018).

Harman (1956), oksidatif stresin çeşitli yaşlanmayla ilişkili hasarları tetikleyebileceğini ve böylece hücrel yaşlanmayı teşvik edebileceğini öne süren "serbest radikal yaşlanma teorisini" ortaya koymuştur. Yaşlanma üzerine yapılan çeşitli çalışmalar, oksidatif stresin hücrel yaşlanmanın başlıca itici güçlerinden biri olduğunu ve aşırı ROS seviyelerinin hücre çoğalmasını engelleyebileceğini ve hücrel yaşlanmayı hızlandırabileceğini göstermiştir. Oksidatif stress, mitokondriyal fonksiyon, DNA hasarı, telomer uzunluğu, lipit peroksidasyonu, kronik inflamasyon ve proteinlerin oksidatif modifikasyonu gibi çeşitli yollarla hücrel yaşlanmayı başlatır. 1969 yılında (McCord ve Fridovich, 1969) süperoksit radikalinin ($O_2^{\bullet-}$) oksijene (O_2) invivo dönüşümünde rol oynayan ve başlıca hücrel antioksidan mekanizmalardan biri olan süperoksit dismutaz (SOD) enziminin keşfiyle daha da netleştirilmiştir. Normal metabolizmanın yan ürünleri olarak endojen olarak oluşan ROS'un, biyolojik moleküllerde oluşan oksidatif hasarın artması ve hücrel yaşlanmayı teşvik etmesi nedeniyle yaşlanma sürecini etkilediği öne sürülmüştür. Çalışmalarda daha yüksek metabolizma hızına sahip türlerin daha düşük yaşam beklentisine sahip olduklarını ve daha hızlı yaşlandıkları belirlenmiştir. Bunu da enerji tüketiminin kendisinin $O_2^{\bullet-}$ ve diğer ROS üretimi yoluyla yaşlanmadan sorumlu olabileceği ile ilişkilendirilmiştir (yaşam hızı hipotezi). Kısaca, daha hızlı bir solunum hızı daha fazla ROS üretimi ile daha hızlı yaşlanmaya katkıda bulunur (Sohal, 1976).

Bununla birlikte, oksidatif stresin yaşlanma sürecindeki kesin rolü konusunda bir tartışma devam etmektedir, çünkü oksidatif

stres tek başına bazı insanların neden diğerlerinden daha hızlı yaşlandığını tam olarak açıklayamamaktadır. Dahası, antioksidan tedaviler tüm hayvan modellerinde yaşlanmayı başarılı bir şekilde yavaşlatamamıştır. (Iakovou & Kourti, 2022).

1. Oksidatif Stresin Patofizyolojisi

Serbest radikaller, dış kabuklarında bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunan oldukça reaktif atomlar veya moleküllerdir ve oksijen belirli moleküllerle etkileşime girdiğinde oluşabilir (Lobo & ark., 2010) Bu radikaller, hücrelerde tek bir elektron kaybederek veya kabul ederek üretilebilir, bu nedenle oksidan veya indirgeyici olarak davranırlar (Powers & ark., 2011). Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS) terimleri, sırasıyla oksijen ve azotun reaktif radikal ve radikal olmayan türevlerini ifade eder (Venkataraman, Khurana & Tai, 2013). Reaktif oksijen ve azot türleri, tüm aerobik hücreler tarafından üretilir ve yaşlanmada ve yaşa bağlı hastalıklarda önemli bir rol oynar. ROS üretimi yalnızca zararlı etkileri belirlemekle sınırlı değildir, aynı zamanda organik moleküllerden enerji çıkarılmasında, bağışıklık savunmasında ve sinyalleme sürecinde de yer alır (Genestra, 2007).

2. Oksidatif Stres ve Mitokondriyal Disfonksiyon

Mitokondriler hücrelerdeki kritik organellerdir ve esas olarak enerji üretimi ve sinyal iletim yollarının düzenlenmesinde rol oynarlar. Normal koşullar altında mitokondriler solunum zincirinin elektron transferi yoluyla ATP ve ayrıca yan ürün olarak az miktarda ROS üretir. Ancak ROS üretim seviyesi hücrelerin antioksidan kapasitesini aştığında oksidatif strese neden olur ve mitokondri içindeki fizyolojik aktiviteleri engeller (Yang & ark., 2024). Mitokondri, oksidatif metabolizmanın (ATP üretimi) merkezidir ve ROS üretiminin önde gelen yeridir. ROS'un esas olarak elektron taşıma zincirlerinden kompleks I ve kompleks III'ten elektron sızıntısı ile üretildiği ve süperoksit oluşturmak için oksijenin kısmi olarak indirgenmesine yol açtığı düşünülmektedir (Ryan, 2020). Süperoksit, mitokondriyal matristeki süperoksit dismutaz 2 (SOD2)

ve mitokondriyal intermembran boşluktaki süperoksit dismutaz 1 (SOD1) olmak üzere iki dismutaz tarafından hızla hidrojen peroksite dismute edilir. Bu süreçte üretilen hem süperoksit hem de hidrojen peroksit topluca mitokondriyal ROS olarak düşünülebilir (Lambert & Brand, 2009; Sedelnikova & ark., 2010).

Oksidatif stres, mitokondrileri birçok şekilde olumsuz etkileyebilir. Ye & ark., (2023), erkek fareler arseniğe maruz kaldığında ROS seviyelerinin arttığını ve bunun daha sonra SIRT1/PGC-1 α eksenini yoluyla NRF1/TFAM yolunu engellediğini göstermişlerdir. Bunun da, mitokondriyal biyogenez ve dinamiklerin bozulmasına ve nihayetinde mitokondriyal disfonksiyona yol açtığını bildirmişlerdir. Wu & ark., (2023), aşırı ROS'un mitokondriyal füzyon ve fisyon arasındaki dengeyi bozabileceğini ve mitokondriyal morfolojide anormal değişikliklere yol açabileceğini göstermiştir. Bu tür değişiklikler mitokondriyal işlevi ciddi şekilde etkiler ve apoptozu tetikler. Bozulmuş dinamiklere ve morfolojik anormalliklere ek olarak, mitokondriyal membran potansiyelinin artan ROS ile önemli ölçüde azaldığı, bunun sonucunda ATP üretiminin azaldığı ve enerji metabolizmasının bozulduğu ve apoptozu daha da aktive ettiği gösterilmiştir (Verma & ark., 2023). Sonuç olarak, oksidatif stres ve mitokondri arasında yakın bir ilişki vardır. Oksidatif stres, mitokondriyal dinamikleri, morfolojiyi ve membran potansiyelini olumsuz yönde etkileyerek mitokondriyal işlev bozukluğuna yol açabilir ve bu da oksidatif strese neden olabilir 5962

3. Oksidatif Stres ve DNA Hasarı

Oksidatif stresin sonuçlarından biri olan DNA hasarı, replikasyon sırasında DNA dizisinde kalıcı bir değişikliktir. DNA hasarının birikmesi gen mutasyonlarına, kromozomal sapmalara ve diğer genomik dengesizliklere yol açabilir ve sonuçta çok çeşitli hastalıklara neden olabilir. ROS, DNA'daki deoksiriboz şekeri, fosfat omurgası ve nükleotid bazlarıyla reaksiyona girerek baz modifikasyonu, DNA-protein çapraz bağlarının oluşumu ve DNA molekülünde tek zincirli kırılmaların ve çift zincirli kırılmaların indüklenmesi gibi hasarlara yol açabilir. DNA bazlarının oksidatif

modifikasyonunun, tek zincirli kırılmalar veya çift zincirli kırılmaların, DNA çapraz bağlanması ve purin ve pirimidin bazlarında ve deoksiriboz şekerinde değişiklikler dahil olmak üzere en yaygın DNA hasarlarından biri olduğu bildirilmiştir (Kreutzmann & ark., 2023). Bunlar arasında kromozomların normal yapısını bozabilir, genomun dengesizliğini artırabilir ve onarımı nispeten zordur. Zhang & ark., (2023), DNA-protein çapraz bağlarının konsantrasyonunun çevredeki antioksidan maddelerin artan dozlarıyla erkek farelerde kademeli olarak azaldığını göstermişlerdir. Bu, ROS seviyelerinin DNA-protein çapraz bağlarının konsantrasyonlarıyla pozitif korelasyonlu olduğunu göstermektedir.

Çalışmalar, aşırı ROS seviyelerinin DNA molekülleri üzerinde, örneğin hidroperoksitlere saldırmak veya bunları üretmek gibi, DNA tek zincirli kırılmaların veya çift zincirli kırılmalarına yol açan belirli doğrudan veya dolaylı olumsuz etkilere sahip olduğunu göstermiştir (Yang & ark., 2024). Tolouee & ark., (2022), aşırı ROS seviyelerinin DNA iplik kopmalarına yol açarken, sürekli düşük ATP seviyelerinin neden olduğu DNA hasarının eksik onarımının DNA hasarının ana tetikleyicisi olduğunu öne sürmektedir.

Oksidasyon ile oluşan DNA ürünleri, genom stabilitesi için doğrudan bir risktir ve iki veya daha fazla oksidatif lezyon olarak tanımlanan oksidatif kümelenmiş DNA lezyonları, birbirinden 10 bp uzaklıkta bulunur (Sedelnikova & ark., 2010). DNA oksidatif bölümleri, en kolay oksitlenenler oldukları için esas olarak guaninlerde meydana gelir. DNA lezyonları genellikle onarılırken, bu oksidatif hasarın bir kısmı, DNA transkripsiyonu ve replikasyonuna müdahale etmeden önce onarım mekanizması tarafından çözülmesi daha zor olan DNA çift sarmallı kırıklara yol açabilir (Sedelnikova & ark., 2010). DNA çift sarmallı kırıkları en ciddi DNA hasarı türüdür ve bu tipteki çok az hasar gen mutasyonlarını, kromozomal sapmaları ve hücre dönüşümünü indüklemek için yeterlidir (Khanna & Jackson, 2001). Telomerik DNA, TTAGGG'nin çoklu tekrarlarını içerir, bu nedenle ROS kaynaklı hasara karşı hassastır (Von Zglinicki, 2002; Reichert &

Stier, 2017). Telomerik DNA, her hücre bölünmesiyle bir eşik uzunluğuna kadar kısaldığı için, telomer bağlayıcı proteinler ondan ayrılabilir ve bu da telomerlerin kapanmaması ve hücrel büyümenin durmasıyla sonuçlanabilir. Öte yandan, önemli kanıtlar oksidatif stresin memeli yaşlanmasında in vitro olarak da rol oynadığını göstermektedir (Nakamura & ark., 2008; Maldonado & ark., 2023).

4. Oksidatif Stres ve Telomer Uzunluğunun Azalması

Kromozomların uçlarındaki özel yapılar olarak telomerler, kromozomların ve genomların stabilitesini korumada önemli bir rol oynar. Hücreler çoğaldıkça telomerlerin kısalması, hücrel senesens veya apoptozisin önemli bir belirteci olarak kabul edilir. Çalışmalar oksidatif stres ile telomer uzunluğu arasında yakın bir ilişki olduğunu göstermiştir (Hori & ark., 2022).

Benzersiz bir DNA polimerazı olan telomeraz, telomerik DNA dizilerinin sentezine katılarak telomer uzunluğunu korur. Oksidatif stres telomeraz aktivitesini inhibe ederek telomer kısalmasını hızlandırabilir. Assavanopakun & ark., (2022), oksidatif stres koşullarının genellikle azalmış telomer uzunluğuyla ilişkili olduğunu bulmuştur. Dahası, telomeraz aktivitesi oksidatif stres süresiyle ilişkilidir. Telomeraz aktivitesi oksidatif stres altında kısa bir süre artar, ancak oksidatif stres devam ettikçe telomeraz aktivitesi kademeli olarak azalır ve etkisi potansiyel olarak koruyucu olmaktan zararlı olmaya kayar. Ek olarak, aşırı ROS seviyelerinin neden olduğu DNA'daki çoklu hasarların onarımı telomer kısalmasına yol açabilir (Yang & ark., 2024).

5. Oksidatif Stres ve Lipit Peroksidasyonu

Lipit peroksidasyonu, aşırı ROS varlığında lipitlerin in vivo oksidatif bozunmasıdır ve malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksi-2-nonenal gibi yaşlanmaya ve ilgili hastalıklara yol açan lipit peroksitlerinin oluşumuyla sonuçlanır (Guillaumet-Adkins & ark., 2017; Verma & ark., 2023; Sánchez-Jaut & ark., 2023).

Çok sayıda çalışma, oksidatif stresin lipit peroksidasyonu için önemli bir tetikleyici olduğunu göstermiştir. Celedón & ark

(1998), model olarak kırmızı kan hücrelerini kullanarak oksidatif stresin eritrositlerdeki lipit içeriği üzerindeki olumsuz etkisini göstermiştir. Aşırı ROS, hücre zarındaki lipit bileşenleriyle reaksiyona girerek hücre zarının morfolojisinde, yapısında, geçirgenliğinde ve genel işlevinde önemli hasara neden olur. Lipit peroksidasyon reaksiyonu, DNA-protein çapraz bağları ve protein eklentilerinin oluşumu gibi çeşitli DNA hasarına neden olabilen lipit peroksiditleri üretir (Tong & Wang, 2020). Buna karşılık, bazı çalışmalar lipit peroksidasyonunun da oksidatif stresi desteklediğini göstermiştir. Ayrıca, oksidatif stres tarafından indüklenen lipit peroksidasyonunun mitokondriyal işlevi, otofajiyi ve diğer normal fizyolojik süreçleri bozduğu ve böylece lipit kahverengileşmesini desteklediği gösterilmiştir (Vilalon-Garca & ark., 2023). Lipit peroksiditlerin birikmesi, ROS'un aşırı birikimini artırarak oksidatif stres ve lipit peroksidasyonunu şiddetlendirebilir (Yang & ark., 2024).

6. Oksidatif Stres ve Protein Oksidatif Modifikasyonu

Proteinler, vücuttaki çoğu fizyolojik aktivitede yer alan önemli makromoleküllerdir. Ancak, işlevsel anormalliklerin varlığında veya vücut yaşlandıkça, proteinler oksidatif strese bağlı hasara ve oksidatif modifikasyonlara uğrayabilir ve ardından ilgili hastalıkların gelişmesine neden olabilir (Sadowska-Bartosz & ark., 2013).

Çoğu protein oksidatif modifikasyonunun doğrudan ROS tarafından veya dolaylı olarak oksidatif stress ürünleriyle etkileşimler yoluyla indüklendiği bildirilmiştir. Oksidatif stres durumu devam ettikçe, proteinlerdeki amino asit kalıntıları oksitlenebilir ve karbonil bileşiklerinin seviyesi yükselebilir, böylece apoptotik programı aktive edebilir. Terao & ark., (2022), aşırı ROS'un, ROS proteazomu aşağı düzenleyerek ubiquitinlenmiş proteinlerin bozunmasını engellediğini, bunun da protein oksidatif modifikasyon ürünlerinin birikmesine ve apoptozu hızlandırmasına yol açtığını öne sürmüşlerdir. Ek olarak, protein oksidatif modifikasyon ürünlerinin de oksidatif stresi şiddetlendirdiğine inanılmaktadır. Örneğin, lizin gibi belirli amino asit kalıntılarının,

çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ile üretilen aldehitlerle eklentiler oluşturarak DNA hasarını daha da kötüleştirebileceği gösterilmiştir (Pérez-Ruiz & ark., 2018). Genel olarak, lipit peroksidasyonunda olduğu gibi, protein oksidatif modifikasyonları ile oksidatif stres arasında döngüsel bir ilişki vardır (Yang & ark., 2024).

7. Oksidatif Stres ve Kronik Enflamasyon

Enflamatuvar yaşlanma, sistemik kronik enflamasyonla karakterizedir ve hücre yaşlanma, bağışıklık sistemi yaşlanması, vücut yaşlanması ve yaşlanmayla ilişkili hastalıklarla birlikte görülür. Yaşlanan hücreler, kronik enflamasyonu teşvik eden ve bağışıklık sistemi zayıflamasına neden olan, böylece sürekli olarak yüksek enflamasyon seviyelerine ve nihayetinde organ işlev bozukluğuna ve yaşlanmayla ilişkili hastalıklara yol açan senesensle ilişkili salgı fenotipleri salgılar (Li & ark., 2023). Lozhkin & ark., (2017) yaşlanma sırasında NOX4'ün artan ekspresyonunun ve aktivitesinin, fare vasküler düz kas hücrelerinde proinflamatuvar bir fenotipe neden olduğunu ve ateroskleroza şiddetlendirdiğini göstermiştir.

Oksidatif stres ve enflamasyon yakından ilişkili süreçlerdir. Oksidatif stres, inflamatuvar sitokin üretimine katkıda bulunan NF- κ B transkripsiyon faktörü yolunu kontrol eder (Flohe & ark., 1997). Garrido & ark., (2019) ise erken yaşlanan farelerin yetişkinlikte artmış proinflamatuvar sitokin seviyeleri, azalmış antioksidan savunmaları ve önemli oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtlar sergilediğini ve bunların erken bağışıklık sistemi yaşlanması ve kısaltmış yaşam süresi ile ilişkili olduğunu göstermiştir.

8. Oksidatif Stres ve Diğer Yollar

Mitokondriyal fonksiyona, DNA hasarına, telomer uzunluğuna, DNA hasarına, telomer uzunluğuna, lipit peroksidasyonuna ve protein oksidatif modifikasyonuna ek olarak, oksidatif stres hücre yaşlanmayı başka yollarla da tetikler.

Örneğin, Jitcă & ark., (2022), oksidatif stresin hücre içi sinyal yollarını etkileyebileceğini ve anormal sinyal iletimine yol açabileceğini bildirmiştir. Oksidatif stress ayrıca, inflamatuvar sitokinlerin salınımı (Apparao & ark., 2022) bağışıklık fonksiyonunun ve rejeneratif kapasitenin aşağı regülasyonu (Matsumaru & Motohashi, 2021) yaşlanma süreciyle ilişkili transkriptomik değişikliklerin indüklenmesi (Pérez-Ruiz & ark., 2018) ve çoklu oksidaz aktivitelerinin inhibisyonu (Vilalon-Garca & ark., 2023) yoluyla organizmanın yaşlanmasını hızlandırır. Bu nedenle, hücresel yaşlanmayı geciktirmek ve normal fizyolojik aktiviteleri sürdürmek için, antioksidanlar, serbest radikal temizleyiciler ve DNA ve protein hasarı onarım yöntemleri kullanarak bu etkilere karşı koymak için çok yönlü bir yaklaşım benimsemek gerekir (Yang & ark., 2024).

9. Sonuç

Oksidatif stres yaşlanma sürecinde ve yaşlanmayla ilişkili çeşitli hastalıkların gelişiminde önemli bir faktördür. İnsanlar yaşlandıkça, çeşitli iç ve dış faktörlerin etkisi altında, vücuttaki aşırı ROS üretimi çeşitli biyokimyasal reaksiyonları tetikleyerek hücresel yaşlanmaya ve çeşitli ilişkili hastalıkların ortaya çıkmasına neden olur. Oksidatif stressi tetikleyen etmenler farklı mekanizmalar aracılığıyla ROS üretimini başlatır, böylece oksidatif stress oluşum sürecini aktive eder ve mitokondriyal disfonksiyon, DNA hasarı, telomer kısalması, lipit peroksidasyonu ve proteinlerin oksidatif modifikasyonu gibi patolojik değişikliklere yol açar (Yang & ark., 2024). Oksidatif stres ile yaşlanmayla ilişkili hastalıklar arasındaki ilişkinin derinlemesine anlaşılması, yalnızca yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine yardımcı olmakla kalmaz, aynı zamanda kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin formülasyonu için teorik bir temel de sağlar. Bu alanın kapsamlı bir şekilde anlaşılması, gelecekteki tıbbi araştırmalar ve uygulamalar için yeni yollar açacak ve yaşlanma sürecini ve ilgili hastalıkları daha iyi anlaşılmasına ve bunlara müdahale edilmesine yardımcı olacaktır (Yang & ark., 2024).

Kaynaklar

Apparao, Y., Phan, C.W., Kuppusamy, U.R. & Sabaratnam, V. (2022). Ergothioneine and its prospects as an anti-ageing compound. *Exp. Gerontol.*, 170, 111982.

Assavanopakun, P., Sapbamrer, R., Kumfu, S., Chattipakorn, N. & Chattipakorn, S. (2022). Effects of air pollution on telomere length: Evidence from in vitro to clinical studies. *Environ. Pollut.*, 312, 120096.

Baker, D. J., Jeganathan, K. B., Cameron, J. D., Thompson, M., Juneja, S., Kopecka, A., et al. (2004). BubR1 insufficiency causes early onset of aging-associated phenotypes and infertility in mice. *Nat. Genet.* 36, 744–749. doi: 10.1038/ng1382

Brown, G.C. (2015). Living too long: the current focus of medical research on increasing the quantity, rather than the quality, of life is damaging our health and harming the economy. *EMBO Rep.* 16, 137–141. doi: 10.15252/embr.201439518

Celedón, G., González, G., Sotomayor, C.P. & Behn, C. (1998). Membrane lipid diffusion and band 3 protein changes in human erythrocytes due to acute hypobaric hypoxia. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 275, C1429–C1431.

Chandrasekaran A., Idelchik MDPS & Melendez J.A. (2017). Redox control of senescence and age-related disease. *Redox Biol.* 11, 91–102.

Deschênes, M., & Chabot, B. (2017). The emerging role of alternative splicing in senescence and aging. *Aging Cell* 16, 918–933. doi: 10.1111/acel.12646

Faggioli, F., Wang, T., Vijg, J., & Montagna, C. (2012). Chromosome-specific accumulation of aneuploidy in the aging mouse brain. *Hum. Mol. Genet.* 21, 5246–5253. doi: 10.1093/hmg/ddc375

Finkel, T, Serrano, M & Blasco, MA. (2007). The common biology of cancer and ageing. Review. *Nature* 448,767-773.

Flohe, L., Brigelius-Flohe, R., Saliou, C., Traber, M.G. & Packer, L. (1997). Redox regulation of NF-kappa B activation. *Free Radic. Biol. Med.*, 22, 1115–1126.

Garrido, A., Cruces, J., Ceprián, N., Vara, E. & De la Fuente, M. (2019). Oxidative-Inflammatory Stress in Immune Cells from Adult Mice with Premature Aging. *Int. J. Mol. Sci.*, 20, 769.

Genestra, M. (2007). Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cell Signal.* 19 (9), 1807–1819.

Guillaumet-Adkins, A., Yafez, Y., Peris-Diaz, M.D., Calabria, I., Palanca-Ballester, C. & Sandoval, J. (2017). Epigenetics and Oxidative Stress in Aging. *Oxidative Med. Cell. Longev.*, 2017, 9175806.

Harman, D. (1956). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* 11, 298–300. doi: 10.1093/geronj/11.3.298.

Hayflick, L. & Moorhead, P.S. (1961). The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.*, 25, 585–621.

Hori, M., Kimura, S.S., Mizutani, Y., Miyagawa, Y., Ito, K., Arai, N. & Niizuma, Y. (2022). Detection of telomere length and oxidative stress in Chondrichthyes. *Fish. Sci.* 88, 741–750.

Iakovou, E. & Kourti, M. A. (2022). Comprehensive Overview of the Complex Role of Oxidative Stress in Aging, The Contributing Environmental Stressors and Emerging Antioxidant Therapeutic Interventions. *Front Aging Neurosci* 13 (14), 827900.

Jazbec, K., Jež, M., Justin, M., & Rožman, P. (2019). Molecular mechanisms of stem cell aging. *Sloven. Vet. Res.* 56, 5–12. doi: 10.26873/SVR-545-2018

Jeyapalan, J. C., Ferreira, M., Sedivy, J. M., & Herbig, U. (2007). Accumulation of senescent cells in mitotic tissue of aging primates. *Mech. Ageing Dev.* 128, 36–44. doi: 10.1016/j.mad.2006.11.008.

Jîtcă, G., Ősz, B.E., TeroVescan, A., Miklos, A.P., Rusz, C., Bătrînu, M. & Vari, C.E. (2022). Positive Aspects of Oxidative Stress at Different Levels of the Human Body: A Review. *Antioxidants*, 11, 572.

Khanna, K.K. & Jackson, S.P. (2001). DNA double-strand breaks: Signaling, repair and the cancer connection. *Nat. Genet.* 27, 247–254.

Kreutzmann, M., Kraus, B.J., Christa, M., Störk, S., Jansen, E.H.J.M., Stopper, H. & Schupp, N. (2023). Differential Modulation of Markers of Oxidative Stress and DNA Damage in Arterial Hypertension. *Antioxidants*, 12, 1965.

Lambert, A.J., Brand, M.D. (2009). Reactive oxygen species production by mitochondria. In *Mitochondrial DNA*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, pp. 165–181.

Li, X., Li, C.T., Zhang, W.Y., Wang, Y.N., Qian, P.X. & Huang, H. (2023). Inflammation and aging: Signaling pathways and intervention therapies. *Signal Transduct. Target. Ther.* 8, 239.

Liguori, I, Russo, G, Curcio, F, Bulli, G, Aran, L, Della-Morte, D, Gargiulo, G, Testa, G, Cacciatore, F, Bonaduce, D & Abete, P. (2018) Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging.* 26 (13), 757-772. doi: 10.2147/CIA.S158513.

Lobo, V, Patil, A, Phatak, A & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. *Pharmacogn Rev.* 4 (8),118–126. doi: 10.4103/0973-7847.70902

López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2013). The hallmarks of aging. *Cell*, 153, 1194. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.039

Lozhkin, A., Vendrov, A.E., Pan, H., Wickline, S.A., Madamanchi, N.R. & Runge, M.S. (2017). NADPH oxidase 4 regulates vascular inflammation in aging and atherosclerosis. *J. Mol. Cell. Cardiol.* , 102, 10–21.

Magalhães, S., Goodfellow, B. J. & Nunes, A. (2018). Aging and proteins: what does proteostasis have to do with age. *Curr. Mol. Med.* 18, 178–189.

Maldonado, E., Morales-Pison, S., Urbina, F., & Solari, A. (2023). Aging Hallmarks and the Role of Oxidative Stress. *Antioxidants*, 12 (3), 651.

Mas-Bargues, C., Alique, M., Barrús-Ortiz, M.T., Borrás, C. & Rodrigues-Díez, R. (2021). Exploring New Kingdoms: The Role of Extracellular Vesicles in Oxi-Inflamm-Aging Related to Cardiorenal Syndrome. *Antioxidants*, 11, 78.

Matsumaru, D. & Motohashi, H. (2021). The KEAP1-NRF2 System in Healthy Aging and Longevity. *Antioxidants*, 12, 1929.

McCord, J. M. & Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase. an enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244, 6049–6055.

Nakamura, A.J., Chiang, Y.J., Hathcock, K.S., Horikawa, I., Sedelnikova, O.A., Hodes, R.J. & Bonner, W.M. (2008). Both telomeric and non-telomeric DNA damage are determinants of mammalian cellular senescence. *Epigenetics Chromatin*, 1, 6

Pérez-Ruiz, I., Meijide, S., Hernández, M.-L., Navarro, R., Larategui, Z., Ferrando, M., Ruiz-Larrea, M.-B. & Ruiz-Sanz, J.-I. (2018). Analysis of Protein Oxidative Modifications in Follicular Fluid from Fertile Women: Natural Versus Stimulated Cycles. *Antioxidants*, 7, 176.

Pole, A, Dimri, M & Dimri, G. (2016). Oxidative stress, cellular senescence and ageing. *AIMS Mol Sci.*, 3 (3), 300–324.

Powers SK, Ji LL, Kavazis AN & Jackson MJ. (2011). Reactive oxygen species: impact on skeletal muscle. *Compr Physiol.* 1 (2), 941–969. doi: 10.1002/cphy.c100054.

Reichert, S. & Stier, A. (2017). Does oxidative stress shorten telomeres in vivo? A review. *Biol. Lett.* 13, 20170463.

Ryan, M.J. (2020). An update on mitochondrial reactive oxygen species production. *Antioxidants*, 9, 472.

Sadowska-Bartosz, I., Adamczyk-Sowa, M., Galiniak, S., Mucha, S., Pierzchala, K. & Bartosz, G. (2013). Oxidative

modification of serum proteins in multiple sclerosis. *Neurochem. Int.*, *63*, 507–516

Sánchez-Jaut, S., Pérez-Benavente, S., Abad, P., Méndez-Cuadro, D., Puyet, A., Diez, A. & Azcárate, I.G. (2023). Protein Susceptibility to Peroxidation by 4-Hydroxynonenal in Hereditary Hemochromatosis. *Int. J. Mol. Sci.*, *24*, 2922

Sedelnikova, O.A.; Redon, C.E.; Dickey, J.S.; Nakamura, A.J.; Georgakilas, A.G.; Bonner, W.M. (2010). Role of oxidatively induced DNA lesions in human pathogenesis. *Mutat. Res./Rev. Mutat. Res.* , *704*, 152–159.

Sohal, R. S. (1976). Metabolic rate and life span. *Interdiscip. Top. Gerontol.* *9*, 25–40.

Terao, R., Ahmed, T., Suzumura, A. & Terasaki, H. (2022). Oxidative Stress-Induced Cellular Senescence in Aging Retina and aging-related Macular Degeneration. *Antioxidants*, *11*, 2189

Tolouee, M., Hendriks, K., Lie, F.F., Gartzke, L.P., Goris, M., Hoogstra Berends, F. & Henning, R.H. (2022). Cooling of Cells and Organs Confers Extensive DNA Strand Breaks Through Oxidative Stress and ATP Depletion. *Cell Transplant.*, *31*, 9636897221108705

Tong, Y. & Wang, S.S. (2020). Not All Stressors Are Equal: Mechanism of Stressors on RPE Cell Degeneration. *Front. Cell Dev. Biol.*, *8*, 591067.

United Nations (2019). World Population Ageing 2019 Highlights. Available online at: <https://www.un-ilibrary.org/content/books/9789210045537>. Accessed September 25, 2021.

Valavanidis, A., Vlachogianni, T. & Fiotakis, K. (2012). Recent scientific advances on the free radical and oxidative stress theory of ageing. Dietary supplements of antioxidants or caloric restriction for reversing ageing? *Pharmakeftiki* 24, 2–12.

Venkataraman K, Khurana S, Tai TC. (2013). Oxidative stress in aging – matters of the heart and mind. *Int J Mol Sci.*,14 (9),17897–17925. doi: 10.3390/ijms140917897.

Verma, A., Azhar, G., Zhang, X.M., Patyal, P., Kc, G., Sharma, S., Che, Y.N. & Wei, J.Y.P. (2023). gingivalis-LPS Induces Mitochondrial Dysfunction Mediated by Neuroinflammation through Oxidative Stress. *Int. J. Mol. Sci.*, 24, 950.

Vilalon-Garca, I., Povea-Cabelo, S., Alvarez-Cordoba, M., Talaverón-Rey, M., Suárez-Rivero, J.M., Suárez-Carrilo, A., Munuera-Cabeza, M., Reche-López, D., Cilleros-Holgado, P., Piñero-Pérez, R., et al. (2023). Vicious cycle of lipid peroxidation and iron accumulation in neurodegeneration. *Neural Regen. Res.*, 18, 1196–1202

Von Zglinicki, T. (2002). Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem. Sci.*, 27, 339–344.

Wang, C., Jurk, D., Maddick, M., Nelson, G., Martin-ruiz, C. & von Zglinicki, T. (2009). DNA damage response and cellular senescence in tissues of aging mice. *Aging Cell*, 8, 311–323. doi: 10.1111/j.1474-9726.2009.00481.x

Warraich, U.-E.-A., Hussain, F. & Kayani, H. U. R. (2020). Aging - Oxidative stress, antioxidants and computational modeling. *Heliyon* 6, e04107. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04107

Wu, L.Y., Chen, Q.Z., Dong, B., Han, D., Zhu, X.M., Liu, H.K. & Jin, J.Y. (2023). Resveratrol attenuated oxidative stress and inflammatory and mitochondrial dysfunction induced by acute ammonia exposure in gibel carp (*Carassius gibelio*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 251, 114544.

Xu, D. & Tahara, H. (2013). The role of exosomes and microRNAs in senescence and aging. *Adv. Drug Delivery Rev.*, 65, 368–375. doi: 10.1016/j.addr.2012.07.010

Yang, J., Luo, J., Tian, X., Zhao, Y., Li, Y. & Wu, X. (2024). Progress in Understanding Oxidative Stress, Aging, and Aging-Related Diseases. *Antioxidants*, 13 (4), 394.

Ye, F.P., Wu, L., Li, H., Peng, X.S., Xu, Y., Li & W.Q., Liu, Q.Z. (2023) SIRT1/PGC-1 α is involved in arsenic-induced male reproductive damage through mitochondrial dysfunction, which is blocked by the antioxidative effect of zinc. *Environ. Pollut.* 320, 121084.

Zhang, Z.J., Yang, Y., Hu, C.J. & Zhang, Z.Q. (2023) Effect of pachymaran on oxidative stress and DNA damage induced by formaldehyde. *Sci. Rep.*, 13, 17465.

BÖLÜM II

Obezite ve İrisin

Hanife Nur ÇUVAL¹
Yeliz KAYA KARTAL²
Tevhide SEL³

Giriş

Obezite günümüzde hem hayvanlarda hem de insanlarda gittikçe artan bir seyir göstermektedir. Dünya Sağlık Örgütü obeziteyi “vücut yağ yüzdesinin sağlık ve refahı bozacak derecede artması durumu” olarak tanımlamış ve yaygınlığındaki endişe verici artış nedeniyle “küresel epidemik bir hastalık” olarak ilan etmiştir. Diyabet, arteriyel hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, karaciğer hastalıkları, bazı kanser türleri, alerjiler, osteoporoz ve

¹ Vet Hek, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara/Türkiye, Orcid: 0009-0005-1133-5716, hanifecuval@gmail.com

²Dr, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara/Türkiye, Orcid: 0000-0002-3661-5504, yelizkaya06@gmail.com

³Prof. Dr., Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara/Türkiye, Orcid: 0000-0002-9753-779X, tevhidesel@gmail.com

sarkopeni gibi çok sayıda patolojinin gelişimi ile ilişkilidir. Yüksek prevalansı, çeşitli hastalıklarla ilişkisi ve yaşam süresinin kısalması nedeniyle obezite küresel bir sağlık sorunudur (Klein & ark. 2022; WHO, 2023).

Egzersizle salgılanan bir kas faktörü olan irisin, beyaz yağ dokusunun kahverengileşmesinin düzenlenmesinde, karaciğer ve sistemik glukoz metabolizmasının iyileştirilmesinde, kas-iskelet sistemi homeostazisinin korunmasında, sinaptik büyümenin desteklenmesinde ve kanserin ilerlemesinin engellenmesinde son derece önemli bir rol oynar.

Obezite

Obezite hem evcil hayvanlarda hem de insanlarda sık görülen, vücutta sağlığını olumsuz etkileyecek düzeyde yağ birikimiyle karakterize bir hastalıktır. İnsanlarda obezite Beden Kitle İndeksi (BKİ) denilen boy uzunluğunun (m) karesinin, vücut ağırlığına (kg) bölümü ile bulunan ölçümle hesaplanırken, hayvanlarda da benzer şekilde veteriner hekim inspeksiyon ve palpasyonla hayvanın vücut kondüsyonunu 1-5 ya da 1-9 arasında skorlandırarak Vücut Kondüsyon Skorunu belirler ((Klein & ark. 2022; WHO, 2023). Geçmişte birçok veteriner hekim hayvanlarda görülme oranının hızla arttığı obeziteyi bir hastalık olarak düşünmemiş fakat zamanla obezitenin ve yol açtığı ciddi sonuçların önemi kabullenilmiştir (German, 2006; German, 2010). Köpeklerde yapılan bir araştırmada obezitenin yaşam kalitesini olumsuz etkilediği ancak kilo kaybıyla birlikte iyileşme gösterdiği bulunmuştur (German & ark., 2012).

Obezite insanlarda ve hayvanlarda ciddi sağlık sorunlarına ve dolaylı olarak ölüme yol açabilen ciddi bir hastalıktır. Obezite, birçok biyokimyasal ve immünolojik faktörün entegre bir şekilde etki ettiği, dünya çapındaki temel sağlık sorunlarından biri olup, yüksek sağlık harcamalarına neden olan, işlevine ve anatomik dağılımına göre sınıflandırılan yağ dokusunun fazlalığıyla

tanımlanan bir sindemidir. Diyabet, arteriyel hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, karaciğer hastalıkları, bazı kanser türleri, alerjiler, osteoporoz ve sarkopeni gibi çok sayıda patolojinin gelişimi obezite, ile ilişkilidir (Chen & ark. 2016; Klein & ark. 2022; WHO, 2023).

Amerika Birleşik Devletleri'nde 2018 yılında kedilerin %60'ı ve köpeklerin %56'sı veterinerler tarafından aşırı kilolu veya obez olarak rapor edilmiştir. 2008'den 2018'e kadar rapor edilen aşırı kilolu veya obez vakalar kedilerde %3, köpeklerde ise %12 artış göstermiştir. Aşırı kilo ve obez vücut koşulları, yaşam kalitesini ve ömrü azaltır. Obezite, bazı kanser türlerinin riskini, insülin/glikoz düzensizliğini (kedilerde diyabet dahil) ve eklem/hareketlilik sorunlarını artırır. Aşırı kilolu evcil hayvanlar daha az aktif ve daha az sosyaldır. Ek olarak aşırı kilo, idrar yolu enfeksiyonu, hipertrigliseridemi, kardiyorespiratuar fonksiyonda değişiklik ve potansiyel olarak karaciğer fonksiyon bozukluğu gibi diğer eşlik eden hastalıklarla da ilişkilidir. Evcil hayvan obezitesi ve buna bağlı sağlık eşitsizlikleri, evcil hayvan sahipleri için parasal ve duygusal yüküdür (Shepherd, 2021).

Obezitede Risk Faktörleri

Obezitenin genetik, biyokimyasal, sosyo-kültürel, psikolojik ve çevresel olabilen çok faktörlü bir etiyolojisi vardır. İnsanlarda ve hayvanlarda obezite sebeplerinin hormonal işleyiş bozuklukları, hatalı beslenme ve davranışsal faktörler gibi büyük kısmı ortaktır.

Obezite için önemli risk faktörleri arasında hipotiroidizm ve hiperadrenokortisizm gibi hastalıklar yer almaktadır. Her hastada obezite görülmez fakat görülme oranı önemsenmeyecek kadar fazladır. Örneğin hipotiroidizm görülen hayvanlarda obezite oranı % 40'tır. Hastalıklar dışında obeziteye yakınlık sebeplerinden birisi de, özellikle insanlarda yapılan çalışmalarla genetik olarak belirlenmiştir (German, A. 2010).

Hareketsiz, kapalı yaşam tarzına sahip ve premium veya terapötik diyetlere erişimi olan (kalori açısından daha yoğun olma eğiliminde olan) kedilerin obez olma olasılığı daha yüksektir.

Kedilerde obezite ile ilişkili sahibinin davranış kalıpları (beslenme ikramları, beslenerek evcil hayvana bağlanma) yanında diğer faktörler arasında, yüksek diyet yağı (karbonhidrat değil), orta yaş, erkek cinsiyet ve kısırlaştırma yer alır. Kısırlaştırılmış kedilerin kalori alımının dışarıdan kontrolü olmadığında aşırı kilolu olma olasılığı daha yüksektir çünkü gonadektomi enerji ihtiyacını azaltır ve isteğe bağlı gıda tüketimi miktarını artırır (Clark & Hoenig, 2021; German, 2012).

Yapılan çalışmalar kedi ve köpeklerde de bazı cinslerin obeziteye duyarlı olması ve dolayısıyla genetiğın de obezitede etkili olma olasılığını düşündürmüştür. Bu konuda insanlarda yapılan çalışmalar genin obezitedeki az da olsa etkisini açıklamıştır, fakat hayvanlarda henüz tanımlanmamıştır. Köpeklerde obeziteye duyarlı olan cinsler Cavalier King Charles Spaniel, Labrador Retriever, Cairn Terrier, Cocker Spaniel, Scottish Terrier olarak sıralanabilir. Kedilerde ise özellikle British Shorthair, British Longhair, Scottish Fold olarak sıralanabilir. (German, A. 2010)

Obez kediler, ortopedik hastalık, alerjik olmayan cilt sorunları, sedasyon veya anestezi ile ilişkili daha yüksek ölüm riski, neoplazi ve insülin direnci ve pankreatik beta (β) hücre fonksiyon bozukluğu ile karakterize edilen diyabet dahil olmak üzere obez insanlarla aynı koşulların çoğuna yatkındır. Obez kedilerin diyabet geliştirme olasılığı ideal vücut kondisyonuna sahip kedilere göre 2-4 kat daha fazladır. Obezitede diyabete yatkınlık şüphesiz insülin direncinin gelişmesiyle ilişkilidir (Clark & Hoenig, 2021).

Kedi ve köpeklerde kısırlaştırma işleminin de hayvanlarda azalan egzersiz ve yavaşlayan metabolik işlevlerden ötürü hayvanları obeziteye duyarlı hale getirdiğini ve risk faktörü oluşturduğunu söylemek mümkündür.

Köpeklerde yapılan çalışmalarda cinsiyetin de obezite üzerinde etkili olduğu ve dişi hayvanların daha duyarlı olduğu açıklanmıştır. Yine kedi ve köpeklerde orta-ileri yaş ve kapalı alanda yaşama da obezite için risk faktörleri arasındadır.

Davranışsal faktörler de obezite için önemli risk faktörlerindedir. Kedilerde depresyon, anksiyete durumları obeziteye sebep olabilir. Kedilerde ve köpeklerde obezitenin en önemli sebeplerinden biri de evcil hayvan sahiplerinin evcil hayvanın yaklaşımını yanlış anlayıp, hayvan her iletişim kurmaya çalıştığında acıktığını ya da yemek istediğini düşünerek ödül maması gibi enerji oranı fazla olan besinleri tüketmesini sağlamaktır. Bu tarz davranışlar evcil hayvanlarda koşullu tepkilere sebep olacak ve her temas kurduğunda ödüllendirildiğini düşünerek daha fazla temas kurmak isteyecektir. Yine kalitesiz, ucuz, enerji oranı dengesiz mamaların verilmesi ya da evsel gıda artıklarının hayvanlara sunulması obezite için duyarlılık sağlar. Oysa ki olması gereken evcil hayvanların doğru besin alımını sağlayarak ve evcil hayvanları oyuna teşvik ederek egzersiz yapmasını ve dolaylı olarak da yağ yakımını uyardır. Köpeklerde sahibi tarafından gezdirilme ya da oynanan oyunlarla hayvanda egzersiz yapımı uyarılabilir fakat kedilerde daha az seçenek vardır ve birçok kedi sahibi bu yüzden yetersiz kalmaktadır (German, A. 2010).

Obezite Patofizyolojisi

Lipit dokusu, adipositler, preadipositler ve destekleyici hücrelerden oluşur. Bu destekleyici hücreler makrofajlar, fibroblastlar, endotel hücreleri ve lökositlerdir. Adipose(lipit) doku, postprandial açlık durumunda enerji kaynağı olarak kullanılan yağ asitlerinin depo görevini görür. Bu doku bazal enerji harcamasına fazla katkıda bulunmaz çünkü enerji tüketimi oldukça sınırlıdır. Geçmiş çalışmalarda bu dokunun hastalıklardaki asıl rolünün, artan kilo taşımının eklem stresine sebebiyet veren etkisi olarak düşünülmüştür. Ancak devam etmekte olan çalışmalar, aşırı vücut ağırlığı ile birçok hastalık arasındaki ilişkinin farklı bir mekanizmayla açıklandığını göstermiştir. Adipose doku, sitokinler, hormonlar ve diğer hücre sinyalleşme maddeleri olan adipokinleri aktif bir şekilde üretmektedir. Bu durum, obezite ile ilişkilendirilen hastalıklara etki edebilmektedir (Laflamme, 2012).

Obezite, pozitif enerji dengesinden kaynaklanan yağ dokusunun fazlalığı olarak tanımlanır ve lipit metabolizmasında yer

alan anabolik ve katabolik süreçler arasındaki dengesizlik ile ilişkilidir. Yağ dokusunun artışı, TNF-a, IL-1 ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin artan ekspresyonunun, tip 2 diyabet, dislipidemi, hipertansiyon, karaciğer hastalığı, kanser, alerji, osteoporoz, sarkopeni gibi çok sayıda komorbiditenin desteklenmesinde rol oynadığı kronik inflamatuvar yanıtla ilişkilidir (German,2012; Clark & Hoenig, 2021). Adiposit metabolizmasında, genetik, yaşam tarzı, beslenme alışkanlığı, enerji harcaması ve metabolik faktörlerin karmaşık etkileşimi sonucu özellikle aşırı beslenme ve sedentar davranış, poligenik diyetle ilişkili hastalıkların ilerlemesini ve patogenezi teşvik etmektedir (Shepherd, 2021).

Leptin hormonunun 1994 yılında keşfedilmesiyle, lipit dokunun geniş salgı fonksiyonunun araştırılmasında önemli bir adım atılmıştır. Keşfedilen bu ilk adipokin, diğer birçok adipokinin tanımlanmasına öncülük etmiştir. Leptinin keşfinden sonra 100'den fazla hormon, kemokin, sitokin ve diğer aktif biyolojik mediatörler tanımlanmıştır (Laflamme, D. P. 2012).

Tüm bu adipokinlerin fizyolojik işlevleri tam olarak tanımlanmasada birçoğu metabolizma, insülin direncini teşvik etme, enerji dengesi veya pro- veya anti-enflamatuvar düzenleme gibi alanlarda gruplandırılabilir.

Anormal yağ asidi trafiği ve yağ asidi oksidasyonunun tamamlanmaması, karaciğer ve kas gibi yağ dışı dokularda yağ açıl-CoA, seramidler ve diaçilgliserol gibi lipit metabolizması ara ürünlerinin birikmesine yol açar. Lipit metabolizması ara ürünlerinin, insülin reseptörü (IR) veya substratları üzerindeki serin kalıntıları fosforile eden enzimleri aktive ederek bu dokulardaki insülin sinyallemesine müdahale eder. Adiposit hipertrojisinden kaynaklanan hücresel hipoksi, oksidatif strese, apoptoza ve inflamatuvar yanıtı yol açar. Obez insanlarda ve kemirgenlerde yağ dokusuna makrofajlar sızar. Tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-a) ve interlökin 6 (IL-6), bu makrofajlardan veya işlevsiz adipositlerden salınabilir ve IR'lerin ve/veya IRS'lerin serin fosforilasyonunu tetikleyebilir (Clark & Hoenig, 2021).

Adipositlerden ve bu hücrelerle bağlantılı makrofaj içeren hücrelerden sentezlenen adipokinlerin bazıları inflamatuvar veya sistemik endokrin etkilere sahipken, bazıları parakrin fonksiyonlara sahiptir ve yalnızca yakın dokuları etkilerler. Adipokinlerin bu çeşitli etkileri vücut içinde sentezlendiği kaynağa ve hayvan türüne göre değişiklik gösterebilmektedir. Örneğin visceral yağ dokudan salgılanan adipokinler, perivasküler, epikardiyal veya intramusküler yağ dokularından salgılananlara göre farklılık gösterme eğilimindedir (Laflamme, 2012).

Adiponektin ve Leptin, adipose dokudan sentezlenen en karakteristik hormonlardır. İnsülin duyarlılığı ve inflamasyonda rol oynayan biyoaktif maddelerin (örn. adipokinler) adiposit salgısında değişiklik, insülin duyarlılığını artıran bir adipokin olan adiponektinin serum konsantrasyonları, insanlarda artan yağ kütlesiyle orantılı olarak azalır (Clark & Hoenig, 2021; Laflamme, 2012).

Yağ dokusundan adipokin üretimi beslenme durumundan etkilenebilir. Özellikle obezite, kas ve karaciğer gibi periferik dokulardaki insülin etkisine genellikle zarar veren adipokin salgılanmasını düzensizleştirir. İnsanlarda ve rodentlerde, obeziteyle birlikte değişen adipokin üretimi, diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalık ve kanser dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların patofizyolojisinde rol oynar. Kedilerde obezite, son zamanlarda diyet ve üreme ortamındaki değişikliklerle ilişkili olarak artmıştır ve insülin direncinin gelişmesinin bir nedeni olarak gösterilmiştir. Obeziteyle ilişkili insülin direnci, insanlarda diabetes mellitus patogenezinin katkıda bulunsa da, kedilerde obeziteyle birlikte adipokinlerin değişimini tanımlayan çok az çalışma mevcuttur (Takashima & ark. 2016; Takashima & ark. 2019)

Leptin

Leptin sadece kedi ve köpeklerde değil, aynı zamanda diğer türlerde de adipositlerin artmasıyla birlikte artar. Bu hormonun enerji düzenlemesi ve iştah düzenlemesi olarak tanımlanan başlıca

işlevleri dışında nöroendokrin ve bağışıklıkla ilgili işlevleri de yer almaktadır.

Leptin, beslenmeye bağlı termogenezi uyararak kalori harcamasını artırmayı sağlayarak, aşırı kalori alımının etkilerini dengelemeye yardımcı olur. Hipotalamusu uyararak yeme isteğini azaltır ve besin alımını düşürür. Leptinin bu işlevi normal yani duyarlı bireylerde sağlıklı işler. Fakat leptin etkilerine dirençli olan birçok obez bireyin olduğu bilinmektedir. Bu durumda bu bireylerde Leptin'in enerji harcamaya teşvik etmesi ve besin alımını düzenlemesi söz konusu değildir. Bu durumun kedilerde veya köpeklerde geçerli olup olmadığı kanıtlanamamıştır (Takashima & ark. 2016; Takashima & ark. 2019).

Adiponektin

Adiponektin hormonunun temel başlıca işlevleri bazal enerji harcamasını uyarabilmek ve insülin duyarlılığını artırmaktır. Adiponektin'in anti-enflamatuar, antidiyabetik ve antiaterojenik etkileri vardır ancak bu etkileri hedef organa bağlı olarak değişir. Farklı türler arasında da bu etkiler değişebilmektedir. Örneğin, adiponektin kaynağı kedilerde farklıdır. İnsanlarda en çok adiponektin derialtı yağ dokudan üretilirken, kedilerde kaynak viseral yağ doku olarak tanımlanmıştır (Clark & Hoenig, 2021; Takashima & ark. 2016)

İnflamatuvar Sitokinler

Yağ dokudan hormonlar dışında enflamatuar sitokinler de sentezlenir. Adipoz dokudan salgılanan TNF-alfa (Tümör Nekroz Faktörü) nın normalin üzerinde artması obezitede sistem genelinde bir enfeksiyona işaret eder. Ayrıca obezitede diğer proinflamatuar adipokinler de bulunurlar. Obezitede özellikle glukoz dengesi ve iştah kontrolünde önemli olan ve bağırsaktan salgılanan hormonlar anormal düzeylerde. Gastrointestinal sistemden salınan Ghrelin güçlü bir iştah uyarıcıdır ve beslenme sonrası bu hormonun yükselmesi obez insanlarda daha uzun süre devam eder. Ghrelinin bu etkisi kediler ve köpeklerde bildirilmemiştir. Ghrelin düzenlenmesiyle obez insanlar aslında daha az enerjiye ihtiyaç

duyarlarken fazlasıyla açlık yaşayıp ihtiyacın çok daha fazlasını almak isterler. İştah kontrolünün kaybı ve obezitenin kısır döngü içerisindeki ilişkisi bu şekildedir (Takashima & ark. 2016; Takashima & ark. 2019).

Obezitede sadece yağ dokunun endokrin işlevleri değil diğer endokrin sistemler de etkilenir. Obez köpeklerde kanda artan tiroid hormonunun tiroid hormonu direncini yansıttığı belgelenmiştir. Obez köpeklerde ayrıca insülin, insülin benzeri büyüme faktörü ve prolaktinin dolaşımdaki artışları gözlemlenmiştir. Obez köpeklerin adrenokortikotropik hormon salgılanmasına yanıt olarak fazlaca kortizol salgılaması obezitenin çoklu sistem üzerindeki etkisini göstermektedir (Clark & Hoenig, 2021;).

Sarkopenik Obezite

Obez bireyler, işlevsellikte bozulmayla ilişkilendirilen yağ infiltrasyonu, düşük kılcal damar yoğunluğu gibi spesifik kas özellikleri gösterir. Sarkopeni ise, kas güçsüzlüğüne, hareket kısıtlılığına ve yaralanmaya karşı artan duyarlılığa neden olan kas kütlesi kaybı olarak tanımlanır; Kas kaybının altında yatan nedenlerin anlaşılması, kas kütlesini ve fonksiyonunu korumaya yönelik strateji ve tedavilerin geliştirilmesi açısından kritik öneme sahiptir. Kasın bir tür endokrin organ olduğu ve aşırı yağ kütlesinin vasküler inflamasyon üzerinde zararlı etkiler gösterdiği iyi bilinmektedir.

Sarkopenik obezite olarak tanımlanan sarkopeni ve obezite kombinasyonu, fonksiyonel kısıtlamalar ve artan mortalite ile ilişkili önemli bir sağlık sorunudur.

Sarkopenik obezite kavramı ilk olarak Roubenoff tarafından, yağ dokusu, özellikle de iç organ yağı tarafından üretilen inflamatuvar sitokinlerin, kas katabolizmasını hızlandırabileceğini ve böylece sarkopenik obeziteyi başlatan ve sürdüren kısır döngü ile açıklanmıştır (De Lorenzo & ark.,2016).

Schrager ve arkadaşları (1985) sarkopenik obezitenin bileşenlerinin yüksek IL-6, C-reaktif protein, IL-1 reseptör

antagonisti ve çözünebilir IL-6 reseptörü seviyeleri ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Obezitenin inflamasyonu doğrudan etkilediğini, bunun da kas gücünü olumsuz etkileyerek sarkopenik obezitenin gelişmesine ve ilerlemesine katkıda bulunduğunu öne sürmüşlerdir. Bu sonuçlar proinflamatuvar sitokinlerin sarkopenik obezitenin hem gelişiminde hem de ilerlemesinde kritik olabileceğini düşündürmektedir (Schrager & ark.1985).

Bu sitokinlerin beyin, karaciğer ve pankreas üzerinde iştahı, karbonhidrat ve yağ metabolizmasını ve enerji dengesini yönlendiren etkileri vardır. Dolayısıyla, yağ kütlesindeki artış, daha yüksek sitokin seviyelerine neden olur ve bu durum, hem kas amino asit dengesi üzerindeki etkisi yoluyla doğrudan, hem de insülin duyarlılığı yoluyla dolaylı olarak protein metabolizmasını etkileyebilir (De Lorenzo ve ark.,2016).

Aşırı vücut yağı ve azalmış iskelet kas kütlesi ve buna fiziksel hareketsizlikten dolayı azalan hareketlilik eşlik eder. Obez bireylerde leptin hormonunun daha yüksek düzeyde salgılanması, IGF-1'i olumsuz şekilde düzenleyen ve kas zayıflığı riskini artıran proinflamatuvar sitokinlerin (örneğin TNF-a ve IL-6) salgılanmasını aktive eder. TNF- α 'nın yükselmesi, kas proteogenezinden sorumlu olan adiponektin salgılanmasını azaltır, ve leptin direnci, sarkopeni gelişimini yoğunlaştırarak β -oksidasyonun azalmasını teşvik eder (Schrager ve ark.1985).

İrisin ve Yapısı

İrisin 112 amino asitin oluşturduğu egzersizle uyarılan peptid yapısında bir miyokindir ve FNDC5 olarak tanımlanan membran proteininin bölünmesiyle oluştuğu yani bir parçası olarak oluştuğu açıklanmıştır. Farelerle yapılan çalışmalar sonucunda FNDC5'in 94 amino asitlik bir bölge, 29 amino asit içeren bir sinyalleme bölgesi ve C terminal bölgesi olarak tanımlanmış 3 bölgeden oluştuğu açıklanmıştır. Hücresel FNDC5'in transmembran olan FNDC5'ten küçük olması İrisin'in dolaşıma katılmadan önce C terminal bölgesinden ayrılarak salgılandığı tahmin edilmektedir (Aslan & Yardımcı, 2017; Boström & ark. 2012; Lai & Unniappan. 2023).

Egzersizle salınımı uyarılan İrisin miyokini, BAT'ın sentezlediği eşleşmemiş protein1'i (UCP1) kullanarak enerji harcanmasını ve mitokondriyal ısı çıkışını sağlar. UCP1'in oksidatif fosforilasyon için ayrıştırıcı bir işlevi vardır. Egzersiz yapıyla UCP1, WAT'ı etkileyerek kahverengileşmesini sağlar. UCP1'in bu işlevi kas içindeki PGC-1a'nın sayesinde gerçekleşmektedir. PGC-1a enerji metabolizmasındaki çeşitli genleri kontrol eden ve düzenleyen bir proteindir ve aerobik egzersizlerle iskelet kasında uyarılır. PGC-1a'nın BAT ve oksidatif kas liflerinde fazlaca bulunur (Boström & ark. 2012).

İrisin hormonunun yapısı hem farelerde hem de insanlarda benzerlik göstermekte fakat fizyolojik ve moleküler işlevleri farklılık göstermektedir. Kemirgenlerde FNDC5/irisin, az miktarda visceral yağ dokudan (VAT), esas olarak deri altı yağ dokudan (SAT) salgılanır. İnsanlarda FNDC5 gen ifadesi kasta WAT'ta olandan yüzlerce kat daha yüksektir. Bu da WAT'ın dolaşımdaki irisin rolüne katkısının az olduğunu ifade etmektedir. Bu farklılıklar sebebiyle de çelişkili sonuçlar elde edildiği düşünülmektedir (Arhire ve ark. 2019; Lai & Unniappan. 2023)

FNDC5'in parçalanmasıyla oluşan İrisin'in yapılan çalışmalarda egzersiz sonucu insanda özellikle iskelet kas dokuda arttığı ve hayvan çalışmalarında fare karaciğerinde aşırı salgılandığında kilo kaybını sağladığı görülmüştür. Egzersiz sonucu uyarılan enerji harcanması FNDC5/İrisin'in salınmasını sağlayan PGC-1a'yı tetikler. İrisin UCP1'in de sentezlenmesini içeren süreçleri WAT'da tetikleyerek enerji harcanmasını ve ısı üretimini sağlar. Egzersizle kasta salınımı artan PGC-1a FNDC5'in aktivitesini artırır. İrisin, WAT içerisinde reseptöre bağlanarak genotipini değiştirir. WAT'ın BAT'a dönüşümü mitokondriyal aktivitenin artışı oksijen tüketimine bağlıdır. Beyaz yağ dokunun kahverengileşmesi enerji harcanmasının artışı sağladığı gibi metabolik aktivitelerde de birçok olumlu etkisi olduğu açıklanmıştır (Aslan & Yardımcı, 2017).

Önceleri yapılan çalışmalarda İrisin'in sadece iskelet kasından sentezlendiği düşünülüyordu ancak yapılan çalışmalar

İrisin'in vücutta birçok yapıdan sentezlendiğini göstermiştir. İrisin özellikle iskelet kasının endomisyum, perimisyum ve nükleer bölümlerinde sentezlenir. Bunun yanı sıra İrisin yağ dokudan da sentezlenmektedir. İrisine vücutta rektumda, yumurtalıklarda, testislerde, tükürük bezlerinde, dilde, midede, optik sinirde, ter bezlerinde ve nöron hücrelerinde rastlanmıştır (Lai & Unniappan. 2023; Öztürk, 2021).

İrisin sentezini etkileyen faktörler arasında yaş, egzersiz ve çevre sıcaklığı sayılabilir. Egzersizin irisin salgılanmasında esas faktör olduğu düşünülmektedir. İrisin'in salgılanması ve salgı miktarını egzersizin şiddeti, türü, süresi ve sıklığı değiştirebilmektedir. Yapılan çalışmalarla yüksek şiddetli antrenmanlar ya da egzersizlerin aksine düşük şiddetkilerin irisin'i daha çok etkilediği açıklanmıştır. İrisin'in yaş ile ilişkisini araştırmak üzere birçok çalışma yapılmış ve hayvan çalışmalarında genç ratlardaki egzersiz sonucu dolaşımdaki İrisin'in daha fazla olduğu görülmüştür. Çalışmalar genel olarak ratlar üzerinde yapılmış fakat yine de gençlerde İrisin'in salınımının daha fazla olma ihtimali kabul görmüştür. Çevre sıcaklığının İrisin salınımı ile ilişkili yapılan çalışmalarda egzersiz yapımı ve soğuk ortam kombinasyonunda İrisin'in salınımının arttığı ortaya konmuştur (İnce, 2020).

Obezite İrisin İlişkisi

Obezitenin kas ve yağ dokusuyla olan ilişkisi araştırılırken hem kas hem de yağ dokudan sentezlenebilen egzersizle uyarılan irisin hormonu keşfedilmiştir. İrisin hormonunun iskelet kasından sonra en önemli kaynağı beyaz yağ dokusu (WAT) olarak kabul edilir. İrisin FNDC5 proteininin proteoliz edilmesiyle ortaya çıkmıştır. İrisin'in termogenezis, vücudun enerji harcaması ve homeostaza olumlu etkisinin hücrelerdeki UCP1 mitokondriyal pompaların çalışmasını artırarak sağladığı açıklanmıştır. İrisin'in bu özellikleri sayesinde WAT'ın kahverengi yağ dokusuna (BAT) dönüşümünü başlatıp sürdürdüğü düşünülmektedir. Bu düşüncedeki asıl önemli kısım BAT'ın mitokondrideki özelleşmiş ısı üretimi

sistemiyle ısı üretmesi, WAT'ın ise sadece yağ depo etmesidir. Bu farklılık obezite ve ilişkili hastalıklarla ilgili olan kısmın beyaz yağ dokusu olduğunu gösterir (Li & ark., 2021; Polyzos & ark. 2018).

İrisin, WAT'ın dönüşümü ve WAT'ın vücuttaki istenmeyen etkilerinin azaltılmasıyla ilgili bir seçenek olarak raporlanmıştır. BAT'ın kış uykusu döngüsüne sahip hayvanlarda ve kemirgenlerde hayati önemi olan termojenik işlevi vardır. Önceleri BAT'ın sadece yeni doğan ve kemirgenlerde olduğu bilinmekteydi. Sonrasında yapılan araştırmalar, yetişkinlerde de var olduğunu tesbiti, vücuttaki net yağ oranı ile BAT'ın miktarının ters orantılı ilişkisi açıklanmıştır. Böylece BAT'ın yetişkinlerde etkin bir metabolik rolü olduğu anlaşılmıştır. Obezite sebeplerinden biri de vücutta beyaz yağ doku yani WAT'ın aşırı depolanması olarak açıklanır. BAT ise tam tersi soğuk, egzersiz yapımı gibi çeşitli uyaranlara tepki olarak enerji harcamada çok önemlidir (Arhire & ark. 2019; Lai & Unniappan. 2023).

Obezite günümüzde hem hayvanlarda hem de insanlarda salgın boyutunda artış gösteren bir hastalık haline gelmiştir. Obezite ve obezite ile ilişkili hastalıklar da artış göstermeye başlamıştır. Obezite ile ilişkili kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve sinir sistemi hastalıkları, insulin direnci, metabolik sendrom, hipertansiyon, tip II diyabet, kronik böbrek hastalığı, kalp yetmezliği gibi sağlık sorunları İrisin'in keşfiyle daha çok araştırılmaya başlanmıştır (Chen & ark. 2016; Li & ark., 2021).

Özellikle irisin'in FNDC5'ten salınırken asıl kesim bölgesinin bilinmesi ve metabolik olarak işlevlerinin daha fazla netleştirilmesi, metabolizma sebepli sağlık sorunları ve metabolik hastalıklarda gıda ya da ilaç olarak kullanılma hedefini gerçekleştirmek için oldukça önemlidir (Panati & ark. 2016).

İrisin, enerjiyi ısıya dağıtmak için kahverengi yağı teşvik ederek diyetle ilişkili obeziteye (DIO'ya) karşı koruma sağlar. Bu mekanizma, p38 MAPK ve ERK1/2 yollarının yanı sıra FAK aracılı kahverengi APC'lerin çoğalmasında da rol oynar. İrisin, PI3K/Akt/GSK3-GS yoluyla karaciğer glikojen sentezini teşvik eder

ve AMPK-PEPCK/G6Pase ve PI3K/Akt/FOXO1 aracılı PEPCK/G6Pase yoluyla karaciğer glikoneogenezisinin oluşumunu inhibe eder, NAFLD ve hepatik steatoz da dahil olmak üzere diyetle indüklenen metabolik bozuklukları azaltır. İrisin ayrıca glikojenezi artırarak ve glukoneogenezi azaltarak insüline duyarlılığı artırır ve bu nedenle insülin duyarlılığını artıran bir hormon görevi görür (Boström & ark. 2012). Beyin dokularında irisin, inflamatuvar yanıtı inhibe eder ve BDNF aracılı sinir hücresinin hayatta kalmasını, farklılaşmasını ve plastisitesini aktive ederek bilişi ve nöro gelişimi destekler. Ayrıca irisin, muhtemelen kanser gelişimini engelleme konusunda büyük terapötik beklentilere sahip olan integrin $\alpha V/\beta 5$ aracılı PI3K/Akt-Snail-EMT ve AMPK-mTOR yollarını bağlayarak tümör hücrelerinin çoğalmasını, göçünü ve istilasını etkiler. Ayrıca egzersize bağlı irisin, kardiyovasküler hastalık riskini de azaltabilir. Kardiyomiyositlerde irisin, integrin $\alpha V/\beta 5$ reseptörüne bağlanarak AMPK aracılı otofajiyi ve mitobiyogenezi uyarır, böylece kalp hipertrofisini ve hasarını hafifletir (Kim & ark. 2018; Li & ark., 2019; Liu & ark. 2022; Maalouf & El Khoury, 2019).

Birçok miyokin ve adipokinin vücuttan atılma süreci bilinirken İrisin'in tam olarak bilinmemektedir. İrisin'in tedavi amaçlı kullanılmasından önce atılma süreciyle ilgili de yeni ve net bilgilere ulaşmak gerekmektedir (Panati & ark. 2016).

Karaciğerde glikoz ve kolesterol sentezi metabolizmasını düzenleyerek antiobezite ve antidiyabetik bir faktör olarak görev yapmaktadır. Ayrıca irisin, I/R'nin neden olduğu karaciğer hasarında inflamasyonu ve oksidatif stresi hafifletir. Sonuç olarak beyin hasarı olan hastalarda irisin ekspresyonunun azaldığı ve ekzojen rekombinant irisin takviyesi sınırları önemli ölçüde koruduğu, hafızayı ve bilişsel işlevi geliştirdiği bildirilmiştir. Bu nedenle irisin felç, serebral iskemi, alzheimer ve diğer beyin yaralanmalarının tedavisinde potansiyel bir hedef olarak kullanılabilir. FNDC5/irisin konsantrasyonu, kemik mineral yoğunluğu (BMD) ve kemik homeostazisi ile ilişkili olup, serumdaki düşük irisin konsantrasyonlarının menopoz sonrası kadınlarda kalça kırıkları ve

osteoporoz ile ilişkili olduğunu göstermiştir. İrisin osteojenik gen ekspresyonunu aktive eder ve kemik oluşumunu indükler. İrisin, osteoblast üretimini uyararak ve osteoklastların farklılaşmasını engelleyerek "yeni bir denge" kurarak kemiğin mikro yapısını korur. Osteositler kemik hücrelerinin %90'ından fazlasını oluşturur ve kemik homeostazisinde önemli rol oynar. İrisin, osteositik apoptozu güçlü bir şekilde inhibe ederek kemik kaybını ve osteoporozu önler. Yani irisin, kasın kemik üzerindeki temel düzenleyici rolünü yansıtan kemik rejenerasyonunu ve homeostazisini düzenler. İrisin esas olarak Ca^{2+} -AMPK-PGC-1 α -FNDC5 yolu aracılığıyla kas dokusu tarafından üretilir. Kas büyümesi ve farklılaşmasında anahtar düzenleyici rol oynayan otokrin tarzda aşağı yöndeki ERK1/2 ve IL-6 yollarını aktive ederek miyoblastların ekspresyonunu indükler (Kim & ark. 2018; Li & ark., 2018; Li & ark., 2019; Liu & ark. 2022).

Osteoartritisli (OA) hastalarda irisin ekspresyonu azalmıştır ve orta derecede fiziksel egzersiz, irisini aktive ederek OA'yi hafifletebilir. İrisinin terapötik etkisi esas olarak hasarlı kıkırdaktaki inflamatuvar durumun azaltılması ve otofaji akışının artırılmasıyla yansıtılır; ayrıca eklem içi rekonbinant irisin enjeksiyonu OA'li hastaların rehabilitasyonunda etkili olabilir. Genel olarak irisin, kanser tedavisinde de geniş bir uygulama alanına sahiptir. İrisin, PI3K/Akt ve STAT3 aracılı Snail/EMT yollarını inhibe ederek tümör hücrelerinin çoğalmasını, göçünü ve istilasını inhibe eder. Ayrıca irisin, AMPK/mTOR yolu yoluyla G1 veya G(2)/M hücre döngüsü durmasını indükleyerek tümör büyümesini de inhibe eder (Liu & ark. 2022).

Kardiyovasküler hastalıklar arasında dünya çapında insan ölümünün önde gelen nedeni olan hipertansiyon, koroner arter hastalığı, miyokard enfarktüsü, kalp yetmezliği, ateroskleroz ve miyokardiyal İ/R hasarı yer alır. Düzenli egzersiz CVD riskini azaltabilir ve irisin bunda çok önemli bir rol oynayabilir. Çalışmalar CVD'lı hastalarda irisin ekspresyonunun sağlıklı insanlara göre önemli ölçüde daha düşük olduğunu göstermiştir (Li & ark., 2018; Li & ark., 2019).

Li ve diğerkleri, direnç egzersizinin iskelet kasından irisin salınımını aktive edebildiğini ve mitofajiyi düzenleyen ve miyokarddaki oksidatif stresi inhibe eden AMPK-PINK1/Parkin-LC3/P62 sinyal yolunu uyarabildiğini ortaya çıkarmıştır. İrisinin kalp hipertrofisi üzerindeki terapötik rolü aynı zamanda otofaji akışının iyileştirilmesine ve koruyucu otofajinin uyarılmasına da yansımıştır. Aterosklerozlu hastalarda irisin düzeyinin normal kontrollere göre önemli ölçüde daha düşük olduğu ve irisin takviyesinin aterosklerozun tedavisi ve iyileştirilmesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Li & ark., 2018).

Bazı patofizyolojik durumlarda (obezite veya kanser gibi) artan irisin hormon konsantrasyonunun; obezite ve kanser gelişiminin engellenmesine etkili olmadığı durumlarda reseptör duyarlılığının ve sayısının azalmasına bağlı olarak “irisin direnci” ne neden olur. Bu duruma yüksek irisin konsantrasyonun kas dokusundan değil artan yağ veya yeni kanser dokularından gelmesi neden olmaktadır; başka bir ihtimal de irisin reseptörünün azalmış aktivitesi ve ekspresyonundan dolayı irisin konsantrasyonu artsa bile bu durumda önemli bir işlevi olmamaktadır (Maalouf & El Khoury, 2019; Pinho & ark., 2023).

Obezitedeki fazla yağ doku, vücut homeostazisinin kaybına ve bazı komorbiditelerin gelişiminde yatkınlığa neden olan hormonların ve adipokinlerin salınımıyla ilgili bir dengesizliğin olduğu kronik inflamatuvar yanıtla ilişkili oksidatif stres üretir. Obezite, diyabet, arteriyel hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, karaciğer hastalıkları, bazı kanser türleri, alerjiler, osteoporoz ve sarkopeni gibi çok sayıda patolojinin gelişimi ile ilişkilidir (Chen & ark. 2016).

Son çalışmalar, irisinin PG-1 α sinyallemesinden kısmen bağımsız olarak oksidatif strese bağlı mitohormesis dengesizliğini düzenlediği ve mitokondriyal yapıyı iyileştirerek enerji metabolizmasını koruduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar, irisinin anormal mitohormesis ile ilişkili hastalıkların tedavisi için

potansiyel bir hedef olabileceğini düşündürmektedir (Wang & ark.2024).

İrisin konsantrasyonunun genel sağlık durumuyla yüksek oranda ilişkili olduğu; obezite, osteoporoz/kırık, kas atrofisi, Alzheimer ve kardiyovasküler hastalıkları (CVD) olan hastalarda önemli ölçüde daha düşük, ancak kanser hastalarında daha yüksek düzeyde olduğu bildirmiştir (Li & ark., 2018; Li & ark., 2019; Liu & ark. 2022; Pinho & ark., 2023).

İrisin, beyaz yağın kahverengileşmesini sağlamak, glikoz stabilitesini ve kemik homeostazisini korumak, kalp hasarını hafifletmek için reseptör integrin $\alpha V/\beta 5$ 'e bağlanarak etki gösterir. Bununla birlikte, kas yenilenmesini düzenlemek, nörojenezi teşvik etmek, karaciğer glikoz homeostazisini korumak ve kanser gelişimini engellemek için reseptörlerine doğrudan bağlanarak çalışıp çalışmadığı açık değildir.

Genel olarak, endotel hücre yüzeyindeki integrin $\alpha V\beta 5$ resöptörü, FNDC5/irisin tarafından aktive edilebilir. Enerji dengesini ve mitokondriyal hemostazı korumak için anahtar bir enerji sensörü olarak, FNDC5/irisin'in mitofaji, oksidatif stres ve mitokondriyal biyogenez üzerindeki etkisine aracılık ederek miyokard hipertrofisini, miyokard enfarktüsünü, ateroskleroza ve diğer kalp hastalıklarını önlemektedir (Li & ark., 2018; Li & ark., 2019; Li & ark., 2021; Liu & ark. 2022). Bu durum, düzenli egzersizin kalp sağlığını korumadaki rolünü yansıtmaktadır.

Sonuç olarak, irisin, obezite ve kardiyometabolik bozukluklarla bağlantılı komorbiditeler için hem önleyici bir tedbir hem de bir biyobelirteç olarak önemli bir rol oynar. Gelecekteki araştırmalar, etki mekanizmalarını daha fazla aydınlatmak için standartlaştırılmış irisin ölçüm yöntemlerine ve çeşitli popülasyonlara odaklanmalıdır. İrisin, metabolik hastalıklar için ilgi çekici bir terapötik hedef olan, ancak hala çok fazla araştırmaya ihtiyaç duyulan bir moleküldür. Bununla birlikte, rekombinant irisin veya egzersizle aktive edilen irisin takviyesi, obezite, osteoporoz, kas atrofisi, karaciğer hasarı ve kardiyovasküler hastalıklarla mücadele etmek için başarılı bir strateji olabilir.

Referanslar

Arhire, L. I., Mihalache, L., & Covasa, M. (2019). Irisin: a hope in understanding and managing obesity and metabolic syndrome. *Frontiers in endocrinology*, *10*, 441-539.

Aslan, N. N., & Yardımcı, H. (2017). Obezite üzerine etkili yeni bir hormon: İrisin. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, *6* (3), 176-183.

Boström, P., Wu, J., Jedrychowski, M. et al. (2012). A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*, *481*, 463–468.

Chen, N., Li, Q., Liu, J., & Jia, S. (2016). Irisin, an exercise-induced myokine as a metabolic regulator: an updated narrative review. *Diabetes/metabolism research and reviews*, *32* (1), 51-59.

Clark M. & Hoenig M. (2021). Feline comorbidities: Pathophysiology and management of the obese diabetic cat. *J Feline Med Surg*. *23* (7), 639-648. doi: 10.1177/1098612X211021540. PMID: 34167340.

De Lorenzo, A, Soldati, L, Sarlo, F, Calvani, M, Di Lorenzo, N & Di Renzo, L. (2016). New obesity classification criteria as a tool for bariatric surgery indication. *World J Gastroenterol*. *22* (2), 681-703.

German, A.J. (2006). The growing problem of obesity in dogs and cats. *The Journal of nutrition*, *136* (7), 1940S-1946S.

German, A. (2010). Obesity in companion animals. *In Practice*, *32* (2), 42-50.

German, A.J., Holden, S.L., Wiseman-Orr, M.L., Reid, J., Nolan, A.M., Biourge, V., Morris, P.J. & Scott, E.M. (2012). Quality of life is reduced in obese dogs but improves after successful weight loss. *Vet. J.* 192, 428–434.

İnce, İ. (2020). Metabolik Bozukluklara Karşı Egzersiz ile İlişkili Yeni Bir Miyokin: İrisin. *Türk Spor Bilimleri Dergisi*, 3 (1), 44-50.

Klein, S, Gastaldelli, A, Yki-Järvinen, H & Scherer, PE. (2022). Why does obesity cause diabetes? *Cell Metab.* 34, 11–20.

Kim, H., Wrann, C.D., Jedrychowski, M., Vidoni, S., Kitase, Y., Nagano, K., Zhou, C., (...), Spiegelman, B.M. (2018). Irisin Mediates Effects on Bone and Fat via α V Integrin Receptors. *Cell*, 175 (7), 1756-1768.

Laflamme, DP. (2012). Companion Animals Symposium: Obesity in dogs and cats: What is wrong with being fat? *Journal of animal science*, 90 (5), 1653-1662.

Lai E. & Unniappan S. (2023). Irisin in domestic animals. *Domest Anim Endocrinol.* 83, 1-9.

Li RL, Wu SS, Wu Y, Wang XX, Chen HY, Xin JJ, Li H, Lan J, Xue KY, Li X, Zhuo CL, Cai YY, He JH, Zhang HY, Tang CS, Wang W & Jiang W. (2018). Irisin alleviates pressure overload-induced cardiac hypertrophy by inducing protective autophagy via mTOR-independent activation of the AMPK-ULK1 pathway. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 121, 242–255.

Li R, Wang X, Wu S, Wu Y, Chen H, Xin J, Li H, Lan J, Xue K, Li X, Zhuo C, He J, Tang CS & Jiang W. (2019). Irisin

ameliorates angiotensin II-induced cardiomyocyte apoptosis through autophagy. *J Cell Physiol.* 234 (10), 17578-17588.

Li, H., Wang, F., Yang, M., Sun, J., Zhao, Y., & Tang, D. (2021). The effect of irisin as a metabolic regulator and its therapeutic potential for obesity. *International Journal of Endocrinology*, 18; 6572342. doi: 10.1155/2021/6572342.

Liu, S, Cui, F, Ning, K, Wang, Z, Fu, P, Wang, D & Xu, H. (2022) Role of irisin in physiology and pathology. *Front Endocrinol*, 13, 962-968. doi: 10.3389/fendo.2022.962968.

Maalouf, GE & El Khoury, D. (2019). Exercise-Induced Irisin, the Fat Browning Myokine, as a Potential Anticancer Agent, *Journal of Obesity*, 6561726, 1-8.

Öztürk, D. (2021). Egzersiz ve Enerji Homeostazisi ile İlişkili Hormonlar. In. Güncel Fizyoloji-Histoloji-Embriyoloji Çalışmaları., s. 17–26, Akademisyen Kitabevi.

Panati, K, Suneetha, Y, & Narala, VR. (2016). Irisin/FNDC5-An updated review. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, 20 (4), 689-697.

Pinho-Jr, JDS, Camacho, FA, Cavararo, CDS, Baião, PF, Medeiros, RF, Barroso, SG & de Matos, AC. (2023) Irisin and Cardiometabolic Disorders in Obesity: A Systematic Review. *Int J Inflam.* 58, 10157. doi: 10.1155/2023/5810157.

Polyzos, SA, Anastasilakis, AD, Efstathiadou, ZA, Makras, P, Perakakis, N, Kountouras, J, & Mantzoros, CS (2018). Irisin in metabolic diseases. *Endocrine*, 59, 260-274.

Schrager, MA, Metter, EJ, Simonsick, E, Ble, A, Bandinelli, S, Lauretani, F & Ferrucci, L. (1985). Sarcopenic obesity and inflammation in the In CHIANTI study. *J Appl Physiol.* 102, 919-925.

Shepherd, M. (2021). Canine and Feline Obesity Management. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 51 (3), 653-667.

Takashima, S, Nishii, N, Kato, A, Matsubara, T, Shibata, S & Kitagawa, H (2016). Molecular cloning of feline resistin and the expression of resistin, leptin and adiponectin in the adipose tissue of normal and obese cats. *J Vet Med Sci.* 78 (1), 23-28.

Takashima, S, Nishii, N, Kobatake, Y, Kiyosue, M, Kimura, S & Kitagawa, H. (2019). Concentrations of leptin, adiponectin, and resistin in the serum of obese cats during weight loss. *J Vet Med Sci.* 81 (9), 1294-1300.

Wang, B, Xu, H, Shang, S, Liu, L, Sun, C & Du, W. (2024). Irisin improves ROS induced mitohormesis imbalance in H9c2 cells. *Mol Med Rep.* 30 (6), 240, 1-8.

World Health Organization (2023). *Obesity.* (03/09/2023 tarihinde https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab_1 adresinden ulaşılmıştır).

BÖLÜM III

Ubikitin-Proteozom Sistemi, Kanser ile İlişkisi ve Proteozom İnhibitörleri

Işıl ÇEŞMEBAŞI¹
Yeliz KAYA KARTAL²
Tevhide SEL³

Giriş

Ubikitin (ubiquitous immunopoietic polypeptide) 1975 yılında G. Goldstein tarafından tüm ökaryot hücrelerden ekspresse edilen ve fonksiyonu bilinmeyen protein olarak keşfedildi (Goldstein & ark., 1975) ve proteinin asıl fonksiyonu ise 1980'lerin başında A. Ciechanover, A. Hershko ve I. Rose tarafından 'ubikitin aracılı protein yıkımı keşfi' ile ortaya çıkarıldı.

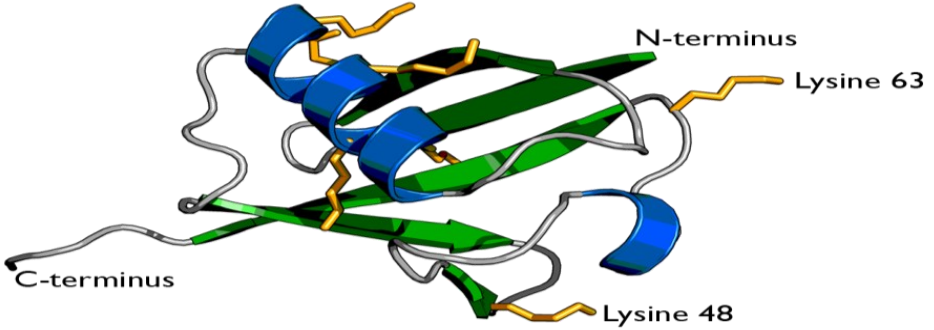
Ubikitin (Ub) yaklaşık 8.5 kDa'lık bir moleküler kütleyle sahip 76 amino asitten oluşan küçük bir proteindir. Birincil yapısı ökaryotik hücrelerde yüksek oranda korunmuştur. Maya ve insan

¹ Doktora Öğrencisi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Biyokimyası Bölümü, Ankara/Türkiye, Orcid: 0000-0003-0126-9215, isilaycesmebasi@hmail.com

²Dr., Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara/Türkiye, Orcid: 0000-0002-3661-5504, yelizkaya06@gmail.com

³Prof. Dr., Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara/Türkiye, O-rcid: 0000-0002-9753-779X, tevhidesel@gmail.com

dizilimi %96 oranında aynıdır, 76 kalıntının sadece 3'ü farklıdır (Roldwell, 2015). Ubikuitin, memelilerde 4 farklı gen ile kodlanır. UBA52 ve RPS27A gen kodları tek bir ribozomal proteine kaynaşmış ubikitin bir kopyalamak için ve UBB ve UBC gen kodları poliubikitin öncü proteinleri içindir (Kimura & Tanaka, 2010).



Şekil 1: Ubikitin'in üç boyutlu yapısı. [α -sarmallar (mavi), β -şeritler (yeşil) ve R-grupları lizil kalıntıları (turuncu)]

Kaynak: <https://tr.wikipedia.org/wiki/Ubikuitin>

Ubikitin çeşitli bağlantılara polimerize edilebilen 7 lizin kalıntısına (K6, K11, K27, K29, K33, K48, K63) sahiptir. İkincil ubikitin molekülleri, her zaman, önceki ubikitin molekülünün yedi lizin kalıntısından birine veya N-terminali metioninine bağlanır. Bu 'bağlama' kalıntıları bir "K" veya "M" ile temsil edilir (sırasıyla lizin ve metioninin tek harfli amino asit notasyonu) ve yanına yazılan sayı, ubikitin molekülündeki pozisyonuna (K48, K29 veya M1'deki gibi) atıfta bulunur (Miranda & Sorkin, 2007).

Ubikitin ve Proteoliz

Ökaryotlarda hücre içi proteinlerin yıkımı için iki önemli yol mevcuttur.

- 1) Uzun ömürlü hücre içi proteinler lizozomlarda ATP'den bağımsız bir yol aracılığıyla yıkılır.
- 2) Kısa ömürlü veya hatalı proteinler ise sitozolde ATP bağımlı ubiquitin (Ub) aracılı sistem ile yıkılır. (Hershko & Ciechanover, 1998)

Ubiquitin-proteozom yolu hücre içindeki hasarlı, yanlış katlanmış ve kısa-ömürlü proteinlerin yıkımda önemli roller oynayan bir proteolitik yoldur. Hedef proteinler yıkılmadan önce ubiquitin ile işaretlenirler. Daha sonra hedef protein üzerinde bir poliubiquitin zincir oluşturulduktan sonra poliubiquitine olmuş protein 26S proteozoma yönlendirilir. 26S proteozomda işaretlenmiş olan hedef protein peptidlere kadar yıkılırlar. Bu nedenden dolayı ubiquitine "ölüm öpücüğü" (kiss of death) adı da verilmiştir.

2004 yılında bu proteoliz yolağının önemini açıklayan Haifa, İsrail'deki Technion İsrail Teknoloji Enstitüsü'nden Aaron Ciechanover ve Avram Hershko ile ABD Irvine, California Üniversitesi'nden Irwin Rose, "Ubikitin aracılı protein yıkımının keşfinden dolayı" Kimyada Nobel Ödülü'nü paylaştılar. (The Nobel Prize in Chemistry 2004)

Ubikitinasyon

Ubikitin bir substrat proteinine eklenmesi, ubikitinasyon veya daha az sıklıkla ubikitalasyon olarak adlandırılır. Ubikitinasyon, bir ubiquitin proteininin bir substrat proteine eklendiği enzimatik bir posttranslasyonel modifikasyondur. Bu işlem en yaygın olarak ubiquitin son amino asidini (glisin 76) substrat üzerindeki bir lizin kalıntısına bağlar. Ubikitin glisini ve substratın lizinindeki epsilon-amino grubunun karboksil grubu arasında bir izopeptid bağı oluşur (Pickart, 2001). Ubikitin-konjuge bir

substrattan tripsin ayrılması ubikitinasyon alanını tanımlamak için kullanılan bir di-glisin kalıntısı bırakır (Marotti & ark., 2002). Ubikitin, "kanonik olmayan ubikitinasyon" olarak adlandırılan, bir proteindeki elektron bakımından zengin nükleofiller içeren diğer bölgelere de eklenebilir (McDowell & Philpott, 2013).

İlk olarak protein MyoD'de bir lizin kalıntısından ziyade, proteinin N-terminusunun amino grubu ubikitinasyon için kullanılmakta olduğu gözlemlenmiştir (Breitschopf & ark., 1998) daha sonra ubikitinin kendisi dahil 22 farklı proteinde (birçok türde) bu durum gözlenmiştir. (Kirisako & ark., 2006)

Ubikitinasyonun Enzimatik Reaksiyonları

Ubikitinasyon için üç tip enzim gerekir: ubikuitin aktive edici enzim (E1), ubikuitin-konjuge enzim (E2) ve ubikuitin ligaz (E3).

Aktivasyon; Ubikitin, ATP'ye bağımlı olan E1 ubikitin aktive edici enzimler tarafından iki aşamalı bir reaksiyonda aktive edilir. İlk adımda, bir ubikitin-adenilat ara ürününün üretimini kapsar. E1 hem ATP'yi hem de ubikitini bağlar ve ubikitin molekülünün C-terminusunun açıl-adenilasyonunu katalize eder. İkinci adımda, ubikuitin'i, AMP'nin salınmasıyla aktif bir sistein kalıntısının aktif bölgesine transfer eder. Bu adım, ubikitin'in C-terminal karboksil grubu ve E1 sistein sülfhidril grubu arasında bir tiyoester bağlantısı ile sonuçlanır (Pickart, 2001).

Konjugasyon; E2 ubikuitin-konjuge enzimler, bir trans (tio) esterifikasyon reaksiyonu yoluyla E1'den E2'nin aktif sistein bölgesine ubikitin transferini katalize eder. Bu reaksiyonu

gerçekleştirmek için E2 hem aktif ubikitine hem de E1 enzimine bağlanır. İnsanlarda 35 farklı E2 enzimi bulunurken, diğer ökaryotik organizmalar 16 ila 35 arasındadır. Yüksek korunmuş yapıları ile karakterizedirler, ubikitin-konjugat katalitik (UBC) olarak bilinirler.(van Wijk & Timmers, 2010)

Ligasyon; E3 ubikitin ligazları, ubikitinasyon kaskadının son aşamasını katalize eder. En yaygın olarak, hedef proteininde bir lizin ve ubikitin C-terminal glisin'i arasında bir izopeptid bağ oluştururlar. (şekil-2) Genelde bu adım hücre içindeki yüzlerce E3'den birinin varlığını gerektirir. E3 enzimleri, sistemin substrat tanıma modülleri olarak işlev görür ve hem E2 hem de substrat ile etkileşime girebilir. Bazı E3 enzimleri E2 enzimlerini de aktive eder. E3 enzimleri, bir ya da iki alana sahiptir: E6-AP karboksil terminus (HECT) alanına homolog ve ilginç yeni gen (RING) alanı (veya U-box alanı ile yakından ilgili). HECT alanı E3'ler bu işlemde ubikitin'i geçici olarak bağlarken (E3'ün aktif bölge sisteiniyle bir zorunlu tiyoester ara maddesi oluşur), RING alanı E3ler, E2 enziminden substrata direk transferi katalize eder (Metzger & ark. 2012). Diğer ubikitin benzeri proteinler de E1 – E2 – E3 kaskadı ile modifiye edilir, ancak bu sistemlerde varyasyonlar mevcuttur (Kerscher & ark., 2006).

Ubikitin Modifikasyonunun Varyasyonları

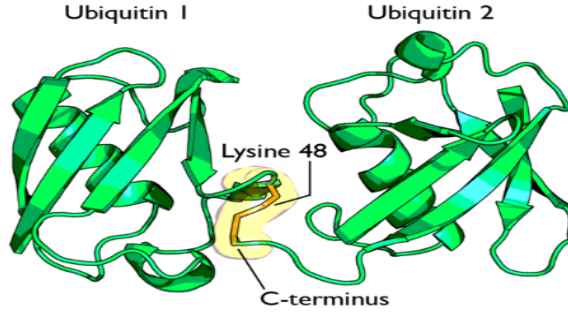
Ubikitinasyon, proteinlerin proteazom yoluyla degradasyonunu düzenleyerek, proteinlerin hücrel lokalizasyonunu koordine ederek, proteinleri aktive veya inaktive ederek ve protein-protein etkileşimlerini modüle ederek hücrel işleyişi etkilemektedir. (Glickman & Ciechanover, 2002) Bu etkiler, tek bir ubikitin molekülünün (monoubikitinasyon) veya farklı

ubikitin zincirlerinin (poliubikitinasyon) substrata eklenmesi ile oluşabilir.

Monoubikitinasyon, bir substrat protein kalıntısına bir ubikitin molekülünün eklenmesidir. Bir proteinin monoubikitinasyonu, aynı proteinin poliubikitinasyonunun'dan farklı etkilere sahiptir. (Komander, 2009) Multi-monoubikitinasyon, çoklu substrat kalıntılarında bir ubikitin molekülünün eklenmesidir. Tek bir ubikitin molekülünün eklenmesinin, polubikitin zincirlerinin oluşmasından önce gerekli olduğu düşünülmektedir. Monoubikitinasyon, membran geçişi, endositoz ve virüslerin tomurcuklanması gibi hücresel süreçleri etkiler (Miranda & Sorkin, 2007).

Poliubikitinasyon, substrat proteini üzerindeki tek bir lizin kalıntısı üzerinde bir ubikitin zincirinin oluşmasıdır. Bir protein substratına tek bir ubikitin parçası eklendikten sonra, devamı bir poliubikitin zinciri üretmek için ilk ubikitin molekülüne eklenebilir. Bu zincirler, bir ubikitin molekülünün glisin kalıntısını bir substratla bağlanmış olan ubikuitinin lizinine bağlayarak yapılır. Ubikitin N-terminusuna ek, ubikitinasyon noktaları olarak hizmet edebilen yedi lizin kalıntısına sahiptir. Bunlar sırasıyla K6, K11, K27, K29, K33, K48, K63 ve M1'dir.(Komander & Rape, 2012). Lizin 48 bağlı zincirler ilk tanımlanmış ve en iyi tanımlanmış ubikuitin zinciridir. K63 zincirleri de iyi karakterize edilmiştir ancak diğer lizin zincirlerinin, karışık ve dallı zincir yapısı, M1-bağlı lineer zincirlerin ve heterolog zincirlerin (ubikitin ve diğer ubikitin benzeri proteinlerin) işlevleri henüz o kadar açık değildir (Komander, 2009 ; Kirisako & ark., 2006).

Lizin 48 bağlı polikubikitin zincirleri, proteoliz olarak bilinen bir süreçle, yıkım için proteinleri hedefler. Proteinin 26S proteazomu tarafından tanınabilmesi için en az dört ubikitin molekülünün yıkılması belirlenen protein üzerinde bir lizin kalıntısına bağlanması gerekir. (Hickle, 2013)



Şekil 3. Lizin-48 bağlantılı diubikitin gösterimi (İki ubikitin zincirinin arasındaki bağlantı turuncu renkte gösterilmiştir.)

Lizin 63'e bağlı zincirler, substrat proteininin proteazomal bozunması ile ilişkili değildir. Bunun yerine, endositik geçiş, inflamasyon, translasyon ve DNA onarımı gibi diğer mekanizmaların kontrolüne izin verirler. Hücrede, lizin 63'e bağlı zincirler, proteazomlara bağlanmasını önleyen ESCRT-0 kompleksine bağlanır. Bu kompleks lizin 63-bağlantılı zincire izin veren UIM içeren Hrs ve STAM1 olmak üzere 2 protein içerir. (Nathan & ark., 2013 ; Bache & ark., 2003)

Poliubikitin zincirleri, nonlineer veya lineer zincirler oluşturmak için sırasıyla izopeptit veya peptit bağları ile birleştirilen ubikitin monomerlerini içerir. Aynı zamanda karma, ubikitin zincirleri olarak da anılan hem K63 hem de M1 bağlantılı zincirleri

içeren hibrit tip de tanımlanmıştır ve çoklu sinyal yollarının regülasyonunda önemli rol oynamaktadır.

Farklı bağlanmış zincirlerin, eklendiği protein üzerinde spesifik etkileri vardır. K29-, K33-, K63- ve M1-bağlı zincirler oldukça doğrusal bir yapıya sahiptir; açık-konformasyon zincirleri olarak bilinirler. K6-, K11- ve K48 bağlantılı zincirler kapalı konformasyonlar oluşturur. Açık konformasyon zincirlerindeki ubiquitin molekülleri birbirlerini birleştiren kovalent izopeptid bağları dışında birbirleriyle etkileşmezler. Tersine, kapalı konformasyon zincirleri etkileşimli kalıntılarla ara yüzlere sahiptir. Zincir konformasyonunu değiştirmek ubiquitin proteininin farklı kısımlarını açığa çıkarır ve gizler, bu farklı bağlantılar, bağlantı için esas olan özgül topolojilere sahip spesifik proteinler tarafından tanınır. Proteinler, ubiquitin bağlama bölgeleri (UBD) vasıtasıyla ubiquitine spesifik olarak bağlanabilir. (Komander & Rape, 2012 ; Miranda & Sorkin, 2007)

Deubikitinasyon

Deubikitinasyon, çok sayıda spesifik ubiquitin ligazlarının ve ubiquitin proteazlarının, deubikitinasyon enzimleri (DUB) olarak adlandırılan ortak eyleminin aracılık ettiği tersine çevrilebilir bir modifikasyondur. Bu enzimlerin aktivitelerinin dengesi, hedef proteinlerin lokalizasyonunu, işlevini ve stabilitesini belirler. Bazı deubikitinasyon enzimleri ubiquitini çıkartarak ve ubiquitin zincirlerini düzenleyerek spesifik ubiquitin ligazlarının etkisine karşıyken diğerleri daha genel olarak çalışır ve hücre serbest ubiquitin monomer havuzunun devamlılığını sağlar. Deubikitinasyon enzimleri, ubiquitin substrat proteinlerinden çıkarılmasıyla ubiquitinasyonunun zıttıdır. Bunlar iki protein arasındaki amid bağı

kesensön derece spesifik sistein proteazlarıdır. Hem İzopeptit (ubikitin ve lizin arası) hem de peptit (ubikitin ve N-terminus arası) bağlarını bölebilirler. Ubikitin ya bir zincirde çoklu kopya halinde (poliubikitin) birleştirilmiş veya ribozomal alt birimlere eklenmiş olabilir. Deubikitinasyon enzimleri, aktif ubikuitin üretmek için bu proteinleri bölerler. Aynı zamanda, ubikitinasyon süreci sırasında küçük nükleofilik moleküllere kazara bağlı olan ubikitini de geri döñüştürmektedirler. Monoubikitin, daha önce proteinlerden uzaklaştırılmış olan serbest poliubikitin zincirlerinden ubikitin'i bölen deubikitime edici enzimler tarafından üretilir (Fangbao & ark. 2014; Dewson & ark. 2023).

İnsan genomunda yaklaşık 100 deubikitinasyon enzimi tanımlanmıştır. Bu sistein proteazları proteaz alanlarına göre dört kategoride sınıflandırılabilir: ubikitin spesifik proteazlar (USP); ubikitin C-terminali hidrolazları (UCH); yumurtalık tümörü (OTU) tipi proteazlar; ve Machado-Joseph hastalığı proteazları (MJD) (Dewson & ark. 2023).

Proteozom

Poliubikitime proteinler 26S proteozomlar için birer substrattırlar. 26S proteozom üç büyük alt ünit kompleksi içerir. Bunlar 20S proteozom core (çekirdek) partikül ve 2 tane 19S cap (regülatör) partiküldür. Çekirdeğin içi boştur ve proteinlerin parçalandığı kapalı bir boşluk sağlar. Çekirdeğin iki ucundaki açıklıklar, hedef proteinin girmesine izin verir. Çekirdek parçacığının her bir ucu, birden çok ATPaz aktif bölgesi ve ubikitin bağlama bölgeleri içeren 19S düzenleyici alt birim ile birleşir. Poliubikitime proteinleri tanıyan ve onları katalitik çekirdeğe aktaran bu yapıdır. 11S parçacığı olarak adlandırılan alternatif bir alt

birimde, çekirdek ile esasen 19S parçacığıyla aynı şekilde birleşebilir. 11S, bir virüs enfeksiyonundan sonra üretilen yabancı peptidler vb. bozulmasında rol oynayabilir (Wang & Maldonado, 2006).

19S düzenleyici parçacık, proteinlerin degradesi için 20S'in uyarılmasından sorumludur. 19S düzenleyici ATPaz'ın birincil işlevi, substratların bozunma bölümüne girmesini engelleyen 20S'deki kapıyı açmaktır (Köhler & ark., 2001). Proteazomal ATPaz'ın bu kapıyı açtığı mekanizma yakın zamanda aydınlatılmıştır. 20S kapısı açılımı ve dolayısıyla substrat degradasyonu, spesifik bir motif içeren proteazomal ATPazların C-terminalini gerektirir. ATPazların C-terminali, 20S'nin tepesindeki ceplere bağlanır ve ATPaz kompleksinin 20S proteolitik kompleksine bağlanmasını sağlar, böylece substratın açılma elemanlarını 20S bozunma makineleri ile birleştirir. C-terminlerinin bu 20S ceplerine bağlanması, 20S'deki kapının açılmasını, bir anahtar-kilit mekanizmasının bir kapıyı açmasıyla aynı şekilde uyarır (Smith & Dokudur, 2007).

Ökaryotik 20S kompleksi, 7 farklı α ve 7 farklı β alt-biriminden oluşur ve 20S kompleksi, kimotripsin, tripsin ve peptidilglutamil benzeri hidrolitik aktiviteler olmak üzere üç farklı proteolitik aktiviteye sahiptir. (Yerlikaya & ark., 2009)

Proteinler küçük peptitlere hızla ayrılır (genellikle 3–25 amino asit uzunluğunda). Ubikitin molekülleri, yıkımdan hemen önce proteinden ayrılır ve tekrar kullanım için geri dönüştürülür. Protein substratlarının büyük çoğunluğu ubikitine olmasına rağmen, proteazomu hedef alan ubikitine olmayan protein örnekleri de vardır. (Kravtsova-Ivantsiv & Ciechanover, 2012)

26S proteozomda yıkılan önemli bazı hücrel proteinler; p53, c-Myc (onkoprotein), IκB (NF-κB inhibitörü), β-katenin, Bax, tBid ve siklinler, poliamin biyosentez enzimleri, c-Fos, siklinler, siklin-bağımlı kinaz inhibitörleri, ve onkogenlerdir. (Engür & Dikmen, 2015)

Ubikitin-Proteozom Sisteminin Kanser İle İlişkisi

Proteinlerin translasyon sonrası modifikasyonu, ökaryotik hücre sinyallerinde genel olarak kullanılan bir mekanizmadır. Ubikitinasyon veya proteinlere ubikitin konjugasyonu, hücre döngüsünün devamı , hücre çoğalması ve gelişimi için çok önemli bir süreçtir. Ubikitinasyon genellikle 26S proteozomunda protein parçalanması için bir sinyal görevi görmesine rağmen, endositoz, enzimatik aktivasyon ve DNA onarımı gibi diğer temel hücrel işlemlere de aracılık eder. Ayrıca, ubikitinasyon, siklinlerin hücrel seviyesini sıkı bir şekilde düzenlediği için yanlış bir düzenlemenin ciddi etkilere sahip olması beklenir (Ding & ark., 2014).

E3 Ubikitin Ligaz Enzimlerinin Kanser İle İlişkisi

Son zamanlarda yapılan çalışmalar ubikitinasyon ve hastalıklar arasındaki ilişkiyi, özellikle kanserin gelişimini netleştirmiştir. E3 enzimleri ve kanser gelişimi arasında güçlü bir bağlantı olduğunu göstermektedir. E3 ubikitin ligazları, akciğer ve meme kanseri gibi birçok insan kanserinde aşırı eksprese edilir. E3 ubikitin ligazlarının aşırı ekspresyonu, hastanın sağkalımına ilişkin olarak zayıf bir prognoz ile ilişkilidir. Genel olarak, E3 ubikitin ligazları aşağıdaki iki ana tipe ayrılır: ubikuitin ile bağlantı için E6 ile ilişkili protein karboksil terminalini tercih eden HECT domeni ligazları, ve RING parmak bölgesi ligazları. Bazı iyi bilinen E3 ligazları anormal şekilde aktive edilir veya insan kanserlerinde

azaltılmış işlev gösterir. MDM2, tümör baskılayıcı proteini p53'ü ubiquile eden E3 ligazıdır ve proteasomal yıkımı hedefler. Artan MDM2 aktivitesi, p53'ün tümör baskılayıcı fonksiyonunu, p53 fonksiyonunun kaybına neden olacak şekilde antagonize eder. Temel olarak genomik amplifikasyona bağlı olarak MDM2'nin aşırı ekspresyonu, yumuşak doku sarkomu veya akciğer kanseri de dahil olmak üzere çeşitli insan kanserlerinde tanımlanmıştır. F-box ve WD, bir F-box proteini olan 7 alanını (FBW7) tekrar eder, iyi çalışılmış başka bir ubiquitin E3 ligazıdır. FBW7, bu kompozit E3 ligazın substrata spesifik bileşenidir. FBW7, substrat proteinlerinin fosforile edilmiş bölgelerine bağlanır, bu da bunların poliubikitinasyonuna ve ardından proteazomal bozulmasına yol açar. Çeşitli onkogenler ve hücre büyümesi ve proliferasyonunun önemli sinyal araçları, Myc, Jun, siklin E, krueppel benzeri faktör 5, Notch homolog 1, translokasyonla ilişkili (Drosophila) (Notch1) ve TGFβ'ye bağlı faktör dahil olmak üzere FBW7'nin hedef proteinleri arasındadır. 1. FBW7 kaybı, meme veya kolon kanseri ve T hücreli akut lenfoblastik lösemi gibi çeşitli malignitelere sıklıkla saptanır. Fare T-hücrelerinde FBW7'nin genetik olarak inaktivasyonu, FBW7'yi bir tümör baskılayıcı gen olarak doğrulayan lenfomagenezi destekler. Jun, Myc veya Notch 1 gibi birkaç FBW7 hedef proteininin aşırı ekspresyonu yalnızca proliferasyonu teşvik etmekle kalmaz, aynı zamanda hücre ölümünü de indükleyebilir. Miyeloid hücre lösemi dizisi 1'in (BCL2 ile ilgili) (MCL1) bir FBW7 hedef proteini olarak tanımlanması, bu açık soru için makul bir açıklama sağlamıştır. İyi bilinen bir başka ubiquitin E3 ligaz olan Casitas B-soy lenfomasının da (CBL) kanser patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir. CBL, FLT3 veya c-KIT gibi reseptör tirozin kinazların çoklu ubiquitinasyon yoluyla down regülasyonunda rol

oyun. CBL'nin serbest bırakılması, akut miyeloid lösemi, lenfoma ve mide karsinomu dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde tanımlanmış ve reseptör tirozin kinaz sinyallerinin yetersiz şekilde sonlandırılmasıyla bağlantılı olmuştur (Sampson & ark. 2023; Zhou & Sun, 2021).

Deubikitinasyon Enzimlerinin Kanser İle İlişkisi

Memeli genomları, USP, UCH, OTU, MJD ve Jab1 / MPN etki alanıyla ilişkili metalloproteaz sınıfı (JAMM) dahil olmak üzere yaklaşık 100 DUB kodları. Metalloproteazlar olan JAMM enzimlerinin yanı sıra, tüm DUB'ler, sistein, histidin katalitik üçlüsü ve aspartik asit, asparagin veya nadiren serinden oluşan üçüncü bir kalıntıdan oluşan klasik bir papain aktif bölge yapısına sahip sistein proteazlarıdır. DUB ailesi büyük olsa da, moleküler düzeyde herhangi bir dereceye kadar sadece bir alt grup tanımlanır. İnsan kanserlerinde mutasyona uğramış DUB'lar artarak tanımlanmaya devam etmektedir, bu durum onkogen ve tümör baskılayıcı olarak rollerini öne sürmektedir. Silindirindromatoz (CYLD), lizine bağlı 63 poliubikitin zincirlerini hedef proteinlerden ayırabilen ve hücrenin hayatta kalmasını veya hücre çoğalmasını düzenleyebilen bir deubikitin edici enzimdir. CYLD ekspresyonunun kaybı, farklı insan kanser türlerinde gözlemlendiğinden, CYLD'nin bir tümör baskılayıcı gen olarak görev yaptığı iyi bilinmektedir. CYLD, tümör nekroz faktörü (TNF) α stimülasyonundan sonra HeLa hücrelerinde NEMO (veya IKK- γ) ve TRAF2 ile etkileşime girer. Kolon ve hepatoselüler karsinom (HCC) hücre hatlarında CYLD'nin zorla ifadesi, NF- κ B aktivitesini önemli ölçüde azaltır. CYLD'nin HCC'de aşırı ekspresyonu, TNF-a ile ilişkili apoptoz indükleyen ligandın (TRAIL) antitümör etkisini artırır. Buna göre, TRAF2'nin CYLD

tarafından in vivo ve in vitro olarak ayrılması apoptozu teşvik eder. NK-signalB sinyal yolunun yanı sıra, CYLD inflamasyonu ve sağkalımı sınırlamak için hem JNK hem de p38MAPK sinyalini etkileyebilir (Dewson & ark. 2023; Zhou & Sun, 2021).

USP2, kanser gelişiminde yer alan iyi çalışılmış başka bir deubikitine edici enzimdir. USP2, androjene duyarlı DUB'ları sıçan prostatından izole etmek için tasarlanan bir çalışmada kanserle ilişkilendirilmiştir. Sıçan DUB Ubp69, insan ortoloğu USP2'nin yanı sıra, bir insan prostat kanseri hücre hattından izole edildi. USP2, ölümsüzleştirilmiş insan prostat epitel hücrelerinin malign transformasyonunu teşvik eder ve in vivo tümör tahlilinde bir NIH3T3'te tümör oluşumunu artırır. USP2'nin diğer etkileri tümör oluşumundaki rolünü artırabilir. MDM2, iki hidrid bölmede mayada yem olarak kullanıldı ve MDM2'yi deubikinitize eden ve stabilize eden USP2 ile bir kompleks oluşturdu. USP2-tükenmiş hücreler azalmış MDM2 ve artmış p53 seviyeleri göstermektedir. USP2'nin ayrıca agresif prostat kanserlerinde sıklıkla aşırı eksprese edilen bir protein olan yağ asidi sentazına (FAS) bağlandığı bulundu. Tümör hücreleri orantısız bir şekilde yağ asitlerini besinsel kaynaklardan türetmek yerine de novo olarak sentezleyerek, FAS'ı prostat kanseri hücre çizgilerini apoptozisten koruyan önemli bir tümör geni yapar. Biyokimyasal düzeyde, USP2'nin çekirdek alanı oldukça karışıktır ve bu DUB'lar yaygın olarak in vitro deneylerde genel bir Ub-çıkarma enzimi olarak kullanılır. Kolon, pankreas ve baş / boyun kanserleri dahil olmak üzere birkaç kanserde USP2 ekspresyonunu azalmıştır. Ne yazık ki, USP2 ekspresyonu ile modüle edilmiş hiçbir hayvan modeli mevcut değildir (Dewson & ark. 2023).

Ubiquitin-proteazom sistemi (UPS), hücrelerde temel bir düzenleyici mekanizmadır ve hücrel homeostazın sürdürülmesi, sinyal iletiminin düzenlenmesi ve hücre kaderlerinin belirlenmesi için hayati önem taşır. Bu biyolojik süreçler, ubiquitin ligazları, ubiquitin-konjuge edici enzimler, deubiquitinazlar ve proteazomlar dahil olmak üzere UPS üyelerinin koordineli sinyal kaskadlarını, substratlar üzerinde ubiquitinasyon ve de-ubiquitinasyona ihtiyaç duyar. UPS üyelerinin yüksek frekanslı mutasyonu veya anormal hiperekspresyonu, ferroptozu, tümör mikro ortamını ve metabolik yeniden kablolama süreçlerini bozar ve tümör büyümesine, metastaza, bağışıklık kaçışına ve ilaç direnci oluşumuna katkıda bulunur. Mevcut UPS modülatörlerinin kanser tedavisinde potansiyeli önemli araştırma konularını oluşturmaktadır (Yang & ark. 2024).

Kanserde Proteozom İnhibitörlerinin Kullanımı

Proteozom inhibisyonu, klinikte etkili bir antikanser tedavi yaklaşımı olarak son 20 yıl içinde ortaya çıkmıştır. Bu durum öncelikle hematolojik malignansiler için geçerlidir. Proteozom inhibitörleri, proteozomların fonksiyonlarını inhibe eder, gen ekspresyonuna bağlı olarak protein yapımını ve çoklu sinyal iletimini engellerler. Sinyal iletimi kesilince kanserli hücreler ölür ve tümörün büyümesi baskılanır. Antitümör etkiler için 26S proteozom kompleksi hedef alınarak birçok proteozom inhibitörü geliştirilmiştir. Bu proteozom inhibitörleri, farklı tümör tiplerinde apoptozu harekete geçirerek antikanser etki göstermiştir. Ayrıca proteozom inhibitörlerinin anjiyogenezi, hücre hücre adezyonunu ve hücre migrasyonunu inhibe ettiği de gösterilmiştir. Klinikte birçok proteozom inhibitörü için multipl myeloma ve solid tümörlerin

tedavisi için çalışmalar mevcuttur.Son zamanlarda yapılan çalışmalarda; kanser hastaları ile sağlıklı bireyler karşılaştırıldığında, kanser hastalarının plazmalarında 20S proteozom miktarının sağlıklı bireylere oranla 1000-kat kadar yükseldiği gösterilmiştir. Bu çalışmalar, proteozom inhibitörlerinin spesifik olarak çoğalabilen hücrelerde apoptoza neden olduklarını ve kanser tedavisinde etkili olabileceklerini düşündürmüştür. (Engür &Dikmen, 2015)

Son on yılda peptid boronatları (örneğin, bortezomib, delanzomib ve MLN9708), peptid epoksi ketonları (örneğin, karfilzomib, oprozomib, ONX-0914 ve PR-924), peptid aldehytler (örneğin, MG132 ve IPSI-001) ve peptidik olmayan β -laktonlar (örneğin, marizomib) dahil olmak üzere çeşitli proteazom inhibitörleri geliştirilmiştir. Bortezomib ile tedavi, her ikisi de proteazom substratları olarak bilinen ve hücre döngüsünün iki önemli negatif regülatörü olan p27KIP1 ve p53'ün stabilizasyonu ile sonuçlanır. Bortezomib ile proteazomal aktivitenin inhibisyonu, I κ B bozulmasını önleyerek ve NF- κ B alt birimlerinin öncüllerinden olan p50 ve p52 sırasıyla p105 ve p100'den oluşturulmasıyla NF- κ B sinyalini baskılar. Bortezomib tedavisi aynı zamanda pro-apoptotik protein Bax'un birikmesine de yol açar, böylece pro-apoptoz ve anti-apoptoz dengesini apoptoza doğru kaydırır. Ek olarak, proteazom inhibisyonunun, kanser hücrelerinde endoplazmik retikulum stresi ve oksidatif stresi indüklediği gösterilmiştir. (Ding & ark., 2014)

Sonuç olarak, ubikitin sistemi, ökaryotlarda lizozomal olmayan proteolitik bir yoldur. Kısa ömürlü veya hatalı proteinler sitozolde ATP bağımlı ubikitin aracılı sistem ile yıkılırlar. Ubikitinasyon veya proteinlere ubikitin konjugasyonu, hücre

döngüsünün devamı, hücre çoğalması ve gelişimi için çok önemli bir süreçtir. Ubikitinasyon genellikle proteazomlarda protein parçalanması için bir sinyal görevi görmesine rağmen, endositoz, enzimatik aktivasyon ve DNA onarımı gibi diğer temel hücresel işlemlere de aracılık eder. Düzenleyici proteinlerin ubikitin aracılı yıkımı ile sinyal iletimi, apoptozis, transkripsiyonel düzenleme ve immün yanıt gibi birçok metabolik olay düzenlenir. Hücre büyümesi ve proliferasyonu tümör baskılayıcılarının, protoonkojenlerinin ve sinyal ileti komponentlerinin ubikitin aracılı yıkımı ile kontrol edilir.

Ubikitin sistemindeki hatalar patolojik olaylara neden olabilir. Ubikitin, beyin iskemisi, kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve kas hastalıkları gibi birçok hastalığın patogenezi ile de yakından ilişkilidir. Bunlardan en çarpıcı olanı malign transformasyon yani kanserdir. Kanser patogenezi ubikitinler ya işlev kaybı mutasyonları ya da işlev kazanımıyla sonuçlanan değişiklikler şeklindedir. İşlev kaybının oluşumu hedef proteinlerde stabilizasyon ile işlev kazanımı ise hedef proteinlerde anormal yıkımla karakterizedir. Hepatoselüler karsinomda ubikitinle konjuge proteinlerin birikimi gösterilmişken, kanseri uyarabilen büyüme faktörlerinin reseptörlerinin ubikitin sisteminin hedef alındığı hatta doğrudan tümör baskılayıcı proteinlerin patofizyolojisinde etkili olduğu gösterilmiştir.

Proteozom inhibitörleri, proteozomların fonksiyonlarını inhibe ederek, gen ekspresyonuna bağlı olarak protein yapımını ve çoklu sinyal iletimini engelleyerek tümör büyümesini baskılar. Proteozom inhibisyonunun etkili bir antikanser tedavi yaklaşımı olarak ele alınması ubikitin-proteozom yolunun kanser araştırmalarında önemli bir çalışma alanı olduğunu göstermiştir.

Kaynaklar

Bache KG, Raiborg C, Mehlum A, Stenmark H (2003). STAM and Hrs are subunits of a multivalent ubiquitin-binding complex on early endosomes. *The Journal of Biological Chemistry*. 278 (14): 12513–21.

Breitschopf K, Bengal E, Ziv T, Admon A, Ciechanover A (1998). A novel site for ubiquitination: the N-terminal residue, and not internal lysines of MyoD, is essential for conjugation and degradation of the protein. *The EMBO Journal*. 17 (20): 5964–73.

Dewson G, Eichhorn PJA, Komander D. (2023). Deubiquitinases in cancer. *Nat Rev Cancer*. 23(12):842-862.

Ding F, Xiao H, Wang M, Xie X, Hu F(2014). The role of the ubiquitin-proteasome pathway in cancer development and treatment. *Frontiers in Bioscience*. 19: 886-895.

Engür S & Dikmen M (2015). Kanser Tedavisinde Proteozom İnhibitörlerinin Önemi. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 31(4):182-187.

Glickman MH, Ciechanover A (2002). The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiological Reviews*. 82 (2): 373–428.

Goldstein G, Scheid M, Hammerling U, Schlesinger DH, Niall HD, Boyse EA. (1975). Isolation of a polypeptide that has lymphocyte-differentiating properties and is probably represented universally in living cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 72 (1): 11–5.

Hershko A. & Ciechanover A. (1998) The ubiquitin system. *Annu Rev Biochem* **67**, 425-79.

Hickle L (2001). Protein regulation by monoubiquitin. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2 (3): 195–201.

Kerscher O, Felberbaum R, Hochstrasser M (2006). Modification of proteins by ubiquitin and ubiquitin-like proteins. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. **22**: 159–80.

Kimura Y. & Tanaka K (2010). Regulatory mechanisms involved in the control of ubiquitin homeostasis. *Journal of Biochemistry*. **147** (6): 793–8.

Kirisako T, Kamei K, Murata S, Kato M, Fukumoto H, Kaine M, Sano S, Tokunaga F, Tanaka K, Iwai K (2006). A ubiquitin ligase complex assembles linear polyubiquitin chains. *The EMBO Journal*. 25 (20): 4877–87.

Komander D (2009). The emerging complexity of protein ubiquitination. *Biochemical Society Transactions*. **37** (Pt 5): 937–53.

Komander D, Rape M (2012). The ubiquitin code. *Annual Review of Biochemistry*. 81: 203–29.

Köhler A, Cascio P, Leggett DS, Woo KM, Goldberg AL, Finley D (2001). The axial channel of the proteasome core particle is gated by the Rpt2 ATPase and controls both substrate entry and product release. *Molecular Cell*. **7** (6): 1143–52.

Kravtsova-Ivantsiv Y & Ciechanover A (2012). Non-canonical ubiquitin-based signals for proteasomal degradation. *Journal of Cell Science*. 125 (Pt 3): 539–48.

Marotti LA, Newitt R, Wang Y, Aebersold R, Dohlman HG (2002). Direct identification of a G protein ubiquitination site by mass spectrometry. *Biochemistry*. 41 (16): 5067–74.

McDowell GS. & PHILPOTT A (2013). Non-canonical ubiquitylation: mechanisms and consequences. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 45 (8): 1833–42.

Metzger MB, Hristova VA, Weissman AM (2012). HECT and RING finger families of E3 ubiquitin ligases at a glance. *Journal of Cell Science*. 125, (Pt 3): 531–7.

Miranda M. & Sorkin A (2007). Regulation of receptors and transporters by ubiquitination: new insights into surprisingly similar mechanism. *Molecular Interventions*. 7 (3): 157–67.

Nathan JA, Kim HT, Ting L, Gygi SP, Goldber AL (2013). Why do cellular proteins linked to K63-polyubiquitin chains not associate with proteasomes? *The EMBO Journal*. 32 (4): 552–65.

Pickart CM (2001). Mechanisms underlying ubiquitination. *Annual Review of Biochemistry*. 70: 503–33.

Rodwell, VW. (2015). Catabolism of Proteins & of Amino Acid Nitrogen. Rodwell, RW, Bender, DA, Botham, KM, Kennely, PJ & Weil, PA (Eds.), *Harpers Illustrated Biochemistry* (30th ed, pp. 287-297) McGraw-Hill Education.

Sampson, C, Wang, Q, Otkur, W, Zhao, H, Lu, Y, Liu, X & Piao, HL. (2023). The roles of E3 ubiquitin ligases in cancer progression and targeted therapy. *Clin Transl Med*. 13 (3), e1204.

Smith, DM, Chang, SC, Park, S, Finley, D, Cheng, Y & Goldberg, AL (2007). Docking of the proteasomal ATPases'

carboxyl termini in the 20S proteasome's alpha ring opens the gate for substrate entry. *Molecular Cell*. 27 (5), 731–44.

Van Wijk, SJ & Timmers, HT (2010). The family of ubiquitin-conjugating enzymes (E2s): deciding between life and death of proteins. *FASEB Journal*. 24 (4), 981–93.

Wang J & Maldonado MA (2006). The ubiquitin-proteasome system and its role in inflammatory and autoimmune diseases. *Cellular & Molecular Immunology*. 3 (4), 255–61.

Yang, W, Wang, S, Tong, S, Zhang, WD & Qin, JJ. (2024) Expanding the ubiquitin code in pancreatic cancer. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 1870 (1), 166884.

Yerlikaya, A & Dokudur, H (2009). Protein yıkımının önemi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 35 (2), 93-99.

Zhou, X & Sun, SC. (2021). Targeting ubiquitin signaling for cancer immunotherapy. *Signal Transduct Target Ther*. 6 (1),13-16.

BÖLÜM IV

Biological Roles of Glycans

Öğünç MERAL¹
Hamdi UYSAL²

Introduction

Until the late 1960s, carbohydrates were thought to be second-class citizens of the cell that providing only energy, having high molecular weight, forming support or protective structures, and storing nutrients. Small amounts of sugar samples found in purified proteins were thought to be residues for a long time (Karaçalı, 2003).

Unlike their interest in the biological roles of proteins and nucleic acids, scientists have long been unconcerned about the biological roles of carbohydrates. For this reason, studies on sugar chains (glycans) have lagged behind proteins and nucleic acids, which are other molecules of life. However, starting from the mid-nineteenth century and the early twentieth century, carbohydrate chemistry, carbohydrate biochemistry and carbohydrate biology (glycobiology) became the focus of much attention. The 1960s were

¹ Assoc. Prof. Dr Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biochemistry, Ankara/Turkey, Orcid: 0000-0001-8813-4991, omeral@ankara.edu.tr

² Prof. Dr., Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biochemistry, Ankara/Türkiye, Orcid: 0000-0002-2289-1815, uysal@veterinary.ankara.edu.tr

a turning point in glycobiology research, and it was revealed that sugars were actually structural parts attached to other molecules, and hybrid molecules formed by sugars attached to other molecules were called glycoconjugates (Reuter et al., 1993; Lehninger et al., 2017).

Glycobiology and Glycans

Glycobiology is the name of a new field of research that studies the structures, biosynthesis and biological functions of sugar chains commonly found in nature. This ranges from carbohydrate chemistry and enzymology of proteins responsible for glycan synthesis or degradation, to the functions of sugars and guidance studies at various levels with various techniques (Zhou and Cobb, 2021; Varki et al., 2022).

History of Glycobiology

The first glycoproteins to be identified as a separate compound were mucins. Sugars have been shown to be structural parts of mucin glycoproteins. One of the most important determinations in the development of glycobiology is the detection and identification of sialic acid. During this period, it was obtained from submaxillary mucin in 1936 and from nervous tissue glycolipids in 1935-1939, under the name sialic acid and neuraminic acid, respectively. The first important step towards understanding glycoproteins was taken in 1938, when it was reported that sugars were also bound to proteins other than mucins. Understanding the importance of protein glycosylation in biology and the physiological and medical meanings of sugar side chains attached to proteins and lipids in glycoconjugates began to be determined in 1941. In 1942, it was shown that influenza virus caused erythrocyte agglutination. The presence of an enzyme called receptor destroying enzyme (RDE) in the culture of *Vibrio cholerae*, which acts similarly, has been reported. Since N-acetylneuraminic acid is always released during the disruption of the activity of mucins by the receptor-degrading enzyme, this enzyme was later named neuraminidase. The isolation of N-acetylneuraminic acid was achieved in 1954. In the same year, proteins that selectively bind carbohydrates (Lectins)

were identified. O-linked and N-linked carbohydrate bonds were identified in the early 1960s. Using ^{64}Cu labeled ceruloplasmin, the researchers enzymatically removed the sialic acid at the end of the sugar chains, and when they injected this sialic acid-free form into laboratory rabbits, they demonstrated that the circulation life of this substance in the blood was shortened and the labeled ceruloplasmin molecules accumulated in the liver. According to the explanation, liver receptors (asialoreceptors) that recognize galactose located under sialic acid removed ceruloplasmin without sialic acid from the blood. In 1969, it was observed that the sugar chains of glycoconjugates on the surface of cancer cells were much wider than those found in normal cells. Isolation of glycosyltransferase enzymes began in the late 1970s. β 1,4-galactosyltransferase cDNAs were cloned in 1986. This new terminology was introduced into the scientific language in the late 1980s. However, those working on glycobiology have spontaneously begun to be recognized as glycobiologists (Faillard, 1988; Mahara et al., 2023; Rao et al., 1998).

Biological Roles of Glycans

The most interesting concept of heteroglycan function is that some carbohydrates represent highly specific compounds that act as carriers of biological information. This ability results from the formation of a wide variety of oligosaccharide structures from a small number of monosaccharides. Considering the anomeric configuration and position differences in glycosidic bonds, 3 molecules of the same hexose (e.g. galactose) can transform into 176 different trisaccharides, while 3 molecules of the same amino acid can transform into only 1 tripeptide (Berger et al., 1982).

Structural, Protective and Stabilizing Roles of Glycans

Oligosaccharides are very important in tissue structure and integrity. In addition, oligosaccharides covering many glycoproteins prevent the polypeptide chain from being recognized by proteases and antibodies (Varki, 1993).

Another accepted important function of oligosaccharide units in glycoproteins is their involvement in correct polypeptide folding in the rough endoplasmic reticulum and subsequent protein solubility and conformation. For this reason, many proteins that are incorrectly glycosylated cannot fold fully, cannot pass out of the endoplasmic reticulum, and are degraded (Varki, 1993).

The most important functions of N-linked oligosaccharides are during protein folding. Chaperones located in the endoplasmic reticulum help synthesized proteins to fold in the correct conformation. Two chaperones called calreticulin and calnexin bind to the unfolded glycoprotein by recognizing mannose-rich oligosaccharides that have a single glucose remaining in their structure. These two chaperones are in the same class of carbohydrate-binding proteins as lectins and have a recognition and binding site for specific carbohydrate structures (Bieberich, 2023; Opdenakker et al., 1993). Many proteins secreted from the cell (plasma proteins, degradative enzymes secreted by yeast and fungi) have a glycoprotein structure because they increase the solubility of oligosaccharide chains. These enzymes are highly resistant to heat, detergents, acids and bases. Enzymatic separation of carbohydrate groups greatly reduces stability (Kobata, 1992)

Glycoproteins synthesized in the presence of glycosylation inhibitors such as tunicamycin, which inhibit Dol-PP-GlcNAc synthesis, precipitate in the endoplasmic reticulum as a result of misfolding and processing or reduced solubility (Opdenakker et al., 1993).

Roles of Glycans in Cell-Cell Recognition

Since the discovery, all cells are covered by a dense layer of sugar, oligosaccharides have been predicted to be the critical determining factor in cell-cell recognition process. L selectins, which mediate the adhesion of leukocytes to endothelial cells, E selectins, which mediate the recognition of leukocytes by stimulated or damaged endothelium, and P selectins, which mediate the interaction between activated platelets or endothelium and

leukocytes are important examples for this process. Carbohydrates containing sialylated sugar chains, such as sialyl Lewis-x and sialyl Lewis-a, are related to these recognition process (Varki, 1993).

A cell may contain a recognition protein on its cell surface, such as a specific lectin, that binds specific carbohydrates on the surface of the complementing cell. This interaction plays a key role in the development and differentiation of inflammation and fertilization (Kobata, 1992).

Roles of Glycans in Fertilization

During natural fertilization, sperm must pass through the zona pellucida to reach the plasma membrane of the oocyte. Zona pellucida contains three glycoproteins. The most important glycoprotein is ZP3, which serves as a receptor for sperm and has an O-linked glycoprotein structure. A protein on the surface of the sperm, galactosyl transferase, interacts with the oligosaccharide chain of ZP3, proteases, hyaluronidases and other substances in the sperm acrosome are released into the environment, and finally, with the help of these enzymes, the sperm crosses the zona pellucida and reaches the plasma membrane of the oocyte (Hedrick, 1996).

Studies on zona pellucida glycoproteins provide a useful perspective for regulating fertility and planning immunocontraceptive methods (Hedrick, 1996).

Roles of Glycans in Inflammation

Cytokines released from the damaged tissue by the inflammatory response resulting recruiting leukocytes to the site of damaged tissue. These leukocytes migrate from the blood and reach the damaged tissue due to the tetrasaccharide known as Sialyl Lewis-X antigen found in leukocytes. Sialyl Lewis-X antigen is recognized by a lectin called E-selectin, which is found on the surface of endothelial cells. As a result of the interaction between selectin and sialyl Lewis-X antigen, leukocytes adhere to the blood vessel wall (Baynes and Dominiczak, 2022; Hoke et al., 1995).

While the adhesion of leukocytes to the vascular wall is important in the fight against infections, it can be dangerous and life-threatening. For example, in myocardial infarction, leukocytes can block the arteries and cause ischemia. Because of the importance of this interaction, new substances known as glycomimetics that mimic the sialyl Lewis-X antigen structure are being investigated. By administering these substances to patients suffering from myocardial infarction, the possibility of ischemia is reduced by blocking the selectin sites and inhibiting the binding of leukocytes to the vessel wall. (Baynes and Dominiczak, 2022; Hoke et al., 1995).

A number of glycans act as specific binding sites for various viruses, bacteria and parasites and are recognition targets for many plant and bacterial toxins. For example, hemagglutinins, a viral envelope protein, specifically recognize the type of sialic acid, its modification, and the linkage of the sugar chain it contains. On the other hand, glycan sequences in soluble glycoconjugates such as mucin can act as decoy targets for microorganisms and parasites. Indeed, the pathogenic organism or toxin seeking mucosal cell membranes to bind may first encounter the glycan ligand in soluble mucin. This may result in the removal of the pathogenic microorganism or toxin and protects the cells from a potential danger (Varki et al., 2022).

N-linked Sugar Chains in Hormones

Sugar chain structures were first obtained from human chorionic gonadotropin hormone (hCG). The two subunits of human chorionic gonadotropin hormone contain two N-linked sugar chains. Additionally, the β subunit contains four O-linked sugar chains (Herkert et al. 2022; Kobata, 1992).

The first information showing the importance of sugar chains in human chorionic gonadotropin was demonstrated by revealing its hormonal activity. These studies showed that the stimulation of cAMP and testosterone production in mouse Leydig cells decreased with the gradual removal of sugar chains in human chorionic gonadotropin hormone by exoglycosidase (Kobata, 1992).

Glycans Carry Biological Information

The conformations of sugars in oligosaccharide chains may vary depending on the connections and distances of the oligosaccharides to other molecules with which they can interact. A common idea is that oligosaccharide chains encode a great deal of biological information, and this depends on the sugars contained in the chains, their strings and conformations. There is evidence that cell surface glycoconjugates interact with specific oligosaccharide chains in some drugs and toxins (Rodwell et al., 2019).

Conclusion

Glycobiology is very important area in modern biotechnology. Undoubtedly, the majority of biologically active molecules are glycoconjugates. The importance of glycans contained in glycoconjugates has become better understood over the years. In recent years, the researchers have noticed the importance of the glycan structures contained in these glycoconjugates and have accelerated their studies in this field.

Glycans have important functions including their structural, protective and stabilizing roles, their role in cell-cell recognition, their role in fertilization, their role in inflammation, their role in hormone metabolism. Besides, glycans acting like hormones and carrying biological information. Due to their important functions, more comprehensive studies on glycans are needed.

Glycans, which have an important role in glycobiology, have found a wide field of study and application, especially in human medicine rather than veterinary medicine. According to current literature studies, further studies on glycans need to be applied in the field of veterinary medicine to understanding the molecular mechanisms of animal diseases, their use in diagnosis and treatment, and understanding the role of glycans.

References

Baynes, J. W. & Dominiczak, M. H. (2022). *Complex carbohydrates: glycoproteins*. In : Medical Biochemistry, Elsevier, 6th Edition, 744.

Berger, G. E., Buddecke, E., Kamerling, P. J., Kobata, A. & Paulson, C. J., Vliegenthart, G., F., J. (1982). Structure, biosynthesis and functions of glycoprotein glycans. *Experientia*, 38(10), 1129-1258.

Bieberich E. (2023). Synthesis, processing and function of N-glycans in N-glycoproteins. *Adv Neurobiol*, 29, 65-93.

Faillard, H. (1988). The early history of sialic acids. *The Japanese-German Symposium on Sialic acids*. 6-18

Hedrick, J. L. (1996). Comparative structural and antigenic properties of zona pellucida glycoproteins. *J Reprod Fertill Suppl*, 50, 9-17.

Herkert, D., Meljen, V., Muasher, L., Price, T. M., Kuller, J. A. & Dotters-Katz, S. (2022). Human chorionic gonadotropin-A review of the literature. *Obstet Gynecol Surv*, 77(9), 539-546.

Hoke, D., Mebius, R., E., Dybdal, N., Dowbenko, D., Gribling, P., Kyle, C., Baumhueter, S. & Watson, S. R. (1995). Selective modulation of the expression of L-selectin ligands by an immune response. *Curr Biol*, 6, 670-8.

Karaçalı, S. (2003). Glikobiyoloji güncel moleküler biyoloji. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*, 27, 489-495.

Kobata, A. (1992). Structures and functions of the sugar chains of glycoproteins. *Eur. J. Biochem*, 209, 483-501.

Lehninger, A., L., Nelson, D., L. & Cox, M. (2017). *Principles of biochemistry*. W.H.Freeman & Co Ltd, 7th Ed. 1013.

Mahara, G., Tian, C., Xu, X. & Zhu, J. (2023). Breakthrough of glycobiology in the 21st century. *Front Immunol*. 5 (13), 1071360.

Rao, V., S., R., Qasba, P., K., Balaji, P., V. & Chandrasekaran, R. (1998). *Confirmation of carbohydrates*. Australia: Harwood Academic Publishers, 359.

Rodwell, W. W., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J. & Weil, P. A. (2019). *Harper'in biyokimyası*. Çevirenler: Doğan Yücel Güneş Tıp Kitabevleri, İstanbul.

Opdenakke, G., Rudd, P., Ponting, C. & Dweek, R. (1993). Concepts and principles glycobiology. *Faseb J*, 7, 1330-7.

Reuter, G., Kelm, S. & Schauer, R. (1988). Chemistry and biology of cell surface glycoconjugates. *Acta Histochemica*, 36, 51-79.

Varki, A. (1993). Biological roles of oligosaccharides: All of the theories are correct. *Glycobiology*, 3 (2), 97-130.

Varki, A., Cummings, R., Esko, J., Freeze, H., Stanley, P., Bertozzi, R., Hart, W. & Etzler, E. (2022). *Essentials of glycobiology*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 4th Ed. 75-163.

Zhou, J. Y. & Cobb, B. A. (2021). Glycans in immunologic health and disease. *Annu Rev Immunol*, 26, 511-536.

BÖLÜM V

Biological Functions of Animal Lectins

Öğünç MERAL¹
Hamdi UYSAL²

Introduction

Animal lectins are carbohydrate-binding proteins that obtained from various tissues. Animal lectins are free or attached to the cell-membranes. Animal lectins mediate many biological processes such as; cell-cell adhesion, protein trafficking, and natural responses to pathogens (Radhakrishnan et al., 2023; Gabius, 1997).

Lectins recognize carbohydrate-containing structures. The most common ligands of lectins are carbohydrate structures of glycoconjugates such as; endogenous glycoproteins or oligosaccharides located in the external membranes of pathogens (Vasta and Ahmed, 2009). Recognition of these structures by lectins occurs when the carbohydrate recognition domain (CRD) in lectins binds monosaccharide structures including sialic acid, galactose, fucose or sulfated sugars in oligosaccharides (Rudd et al., 2001).

¹ Assoc. Prof. Dr., Ankara University, Faculty of Veterinay Medicine, Department of Biochemistry, Ankara/Turkey, Orcid: 0000-0001-8813-4991, omeral@ankara.edu.tr

² Prof. Dr., Ankara University, Faculty of Veterinay Medicine, Department of Biochemistry, Ankara/Turkey, Orcid: 0000-0002-2289-1815, uysal@veterinary.ankara.edu.tr

However, this monosaccharide specificity determines the function of the lectin, and monosaccharides bind to a single lectin carbohydrate recognition domain (CRD) with high specificity but low affinity (Vasta and Ahmed, 2009).

Studies on lectins began in the last quarter of the 19th century. An Estonian researcher, at the institute of pharmacology where he continued his studies, demonstrated the agglutinating effect of an extract obtained from the *Ricinus Communis* plant on erythrocytes. As a result of this study, the formation of toxic substances in the plants naturally misled the researcher and it was concluded that the agglutination in erythrocytes was caused by the toxin called ricin in *Ricinus communis*. In studies conducted in following years, it was understood that the factor causing agglutination was not ricin but a protein. This protein, which was contained in the extract in the study and could specifically recognize and bind monosaccharides on erythrocytes, was named lectin (from Latin *legere* = selective) many years later (1954) (Seyrek and Bildik, 2001).

Until the beginning of the twentieth century, lectins were thought to be found only in plants. However, recent studies have shown that lectins are found in a wide range of organisms, from mollusks to vertebrates. Lectins play a role in the formation of many biological process. Since these proteins, called lectins, have continued to exist during the evolution process, it is obvious that they have important biological roles (Gabijs, 1997).

In parallel with the development of molecular biology, studies on understanding the biological information in carbohydrates have also gained momentum, especially since the mid-1980s. It is well known that nucleic acids, which ensure the transfer of genetic information between generations, and amino acids, which constitute the building blocks of proteins, are essential molecules for the continuity of life. For many years, carbohydrates were thought to serve only as energy sources and provide structural support in the organism. Recently, studies have shown that carbohydrates also play a key role in ensuring intercellular communication in addition to

their other functions, which is indispensable for the continuity of life. It was discovered that carbohydrates use special lectins as receptors while performing these functions. Carbohydrates, with their many different connections (1-3, 1-4, 1-6), anomeric structures (α or β) and modifications (sulfation, phosphating), are much more suitable for storing information when compared to nucleotides or amino acids (Seyrek and Bildik, 2001).

The most important feature of lectins is their specific to binding with carbohydrates. Thus, they serve as a recognition determinants in various biological process including cell-cell recognition, host-pathogen recognition, cancer transformation and metastasis, cell development and differentiation, regulation of intracellular traffic of glycoproteins, intracellular communication, binding of glycoproteins to enzymes in multienzyme systems, serum glycoprotein turnover and innate immune responses. They are also storage molecules and serve in the storage of sugar molecules (Deveci, 2003).

Functions of Animal Lectins

Connection and communication between cells that form the tissues are of great importance in the formation of tissues. Most cells are not in direct contact with each other due to the negative charge created by sialic acid on the membrane surface. Cells communicate with each other through many intermediary molecules found in the structure of glycoconjugates. It has been known for many years that cells have a certain tendency towards each other. Studies conducted especially since the mid-1950s have revealed that the existing attraction between cells is a result of molecules localized on the cell surfaces (Seyrek and Bildik, 2001).

Lectins establish carbohydrate-protein interactions with the carbohydrate units of glycoconjugates, which are shaped according to the key-lock principle. As a result of this interaction, they have important roles in many important biological processes including intercellular communication, signal transfer, protein transport, fertilization, cell differentiation, cell adhesion, growth control,

immunological roles such as; secretion of interferon and cytokine, stimulation of macrophages for phagocytosis, transformation of cells in pathological events, metastasis and embryogenesis. (Radhakrishnan et al., 2023; Gabius, 1997).

Selectins and Leukocyte Adhesion

Selectins are Ca^{2+} dependent type I transmembrane lectins found in leukocytes and endothelial cells. They have three members: L-selectin (CD62L), E-selectin (CD62E) and P-selectin (CD62P). L-selectin is found in leukocytes, while E-selectin and P-selectin are found in endothelial cells. All of these selectins and their ligands have been shown to play a key role in the leukocyte-endothelial cell relationship by causing the leukocyte to roll onto the endothelial cell and slow down from the bloodstream (Peterson et al., 2024).

The known ligands of all three selectins are in the carbohydrate-rich mucin structure. The carbohydrates in the ligands are in the structure of sialic acid, fucose and sulfate. Sialyl-Lewisx with sialic acid and fucose structure is known as the most important ligand known for all three selectins. P-selectin and L-selectins, except E-selectin, require sulfate for binding to their ligands (Sarikara S., 1998). P-selectin ligand, P-selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1), contains parts that can bind with P-selectin such as sLex and sialic acid (McGill et al., 1998).

Like most adhesion molecules, selectins are formed by the combination of several types of subunits. All three selectins have lectin units at their extracellular amino termini. Following this, there are units similar to complement regulator proteins (2 in L-selectins, 9 in P-selectins, and 6 in E-selectins) attached to the epidermal growth factor (EGF) unit, the number of which varies depending on the type of selectin. These extracellular parts continue with transmembrane units and cytoplasmic ends (Peterson et al., 2024; Yörüker and Akkuş, 2000).

The units in the structure of biomolecules are responsible for provide their specific functions. An example of this is the function

of lectin units as binding sites for selectin ligands (Yörüker and Akkuş, 2000).

Selectins are very important for the molecular process that allows leukocytes to bind to the vascular cells and migration. In this way, selectins enable neutrophils and monocytes to migrate to the site of inflammation. Among the selectins, L-selectin plays a role in the migration of lymphocytes to the lymph nodes during lymphocyte recirculation. E-selectin is an endothelial cell adhesion molecule that can be stimulated by cytokines for neutrophils and monocytes (Iwabuchi et al., 1991).

P-selectin is stored as storage granules in platelets and in Weibel-Palade bodies in endothelial cells. The migration of the granule content to the cell membrane results in P-selectin expression on the cell surface within a few minutes. Like P-selectin, E-selectin is also involved in the binding of neutrophils and monocytic cells (Ruco et al., 1992).

Mannose-Binding Lectin and Infection

The interactions between bacterial carbohydrate residues and lectins in organs are important in the formation of infections. The fact that some bacterial species only infect certain organs is due to the different distribution of lectins, which are ligands for their oligosaccharides, in the organs. In vitro studies have shown that pneumococci do not adhere to the liver, spleen and brain cells, but they can adhere to lung cells, which explains why infectious agents are localized to certain organs. In these studies, it was observed that 23-25 bacteria adhered to each cell initially, but after the lectins in the cells were blocked with carbohydrates, only 4-5 bacteria could adhere to each cell. There are also publications indicating that lectin-carbohydrate interactions play a key role in parasite invasions and the formation of viral infections (Idowu et al., 2021; Seyrek and Bildik, 2001). Mannose-binding lectin is a 96 kDa acute phase

protein synthesized in the liver and is a member of the collectin family of proteins, bearing a collagenous region and a lectin unit. Today, it is accepted that it is an important element of the innate immune system (Turner, 1996).

Mannose-binding lectin (MBL) is a carbohydrate-binding protein synthesized by hepatocytes. It binds to repeat mannoses or other oligosaccharides in pathogens, resulting in conformational changes in mannose-binding lectin multimers (Worthley et al., 2005).

Mannose-binding lectin consists of a trimer of three similar polypeptides. Three to six trimers with a molecular weight of 32 kD (228 amino acids) are combined. Each polypeptide contains a carbohydrate-recognizing domain, a neck domain, a collagen domain, and a cysteine-rich domain (Idowu et al., 2021; Tsutsumi et al., 2005).

Mannose-binding lectin interacts with many microorganisms including bacteria, viruses, fungi, and protozoa (Worthley et al., 2005). Many studies have shown that low mannose-binding lectin levels and mannose-binding lectin gene polymorphisms increase the risk of microbial infection, but a clear relationship between complement system defects and bacterial sepsis has not been documented (Dumestre-Perard et al., 2007).

Mannose-binding lectin binds to the gp120 envelope proteins of HIV1 and HIV2. Mannose-binding lectin opsonizes the virus and may prevent entry into T lymphocytes. However, it has relatively little HIV-neutralizing capacity. There is evidence that HIV-exposed individuals with mannose-binding lectin deficiency are at increased risk of infection. Data have not consistently shown a relationship between mannose-binding lectin deficiency and disease progression. Mannose-binding lectin is also active against influenza A virus. It both enhances lysis of infected cells and limits the infectivity of the virus (Worthley et al., 2005).

Mannose-binding lectin recognizes and binds to mannan, a major component of the fungal cell wall. It binds to a variety of

fungi, including *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, and *Cryptococcus neoforma*. This is particularly important in immunocompromised patients who cannot be controlled by conventional antifungal therapy (Worthley et al., 2005).

Targeting P-type Lectins and Lysosomal Enzymes

The cation-dependent mannose-6-phosphate receptor (CD-MPR) and insulin-like growth factor/mannose-6-phosphate receptor (IGF-II/MPR) are two members of P-type lectins and they differ from other type of lectins by recognition of phosphorylated mannose residues (Dahms et al., 2022).

Cation-dependent and non-dependent mannose-6-phosphate receptors (CI-MPR and CD-MPR) bind high-mannose-type N-glycans containing mannose-6-phosphate found in lysosomal hydrolases and are involved in the transport of these enzymes to lysosomes (Song et al., 2009). Recognition of lysosomal hydrolases by cation-dependent and non-dependent receptors depends on the presence of mannose-6-phosphate in high-mannose-type N-glycans (Bao et al., 1996).

Galectin-3 and Cancer

Galectin-3 is a galactose-specific lectin and plays an important role in many biological processes through its unique glycoconjugates. Galectin-3 consists of two different parts: the amino terminal end, rich in glycine, tyrosine, and proline, and the carboxy terminal end, which binds carbohydrates and exhibits a more globular structure. Studies have shown that galectin-3 can form dimers and oligomers due to specific structure of the amino terminal end, and thus can undertake very different biological roles (Blanda et al., 2020).

Galectin-3 can be localized on the cell surface, in the cytoplasm, and in the nucleus. Galectin-3, which is localized on the surface of tumor cells facing the extracellular matrix, plays a role in

the adhesion of metastatic cells (Gong et al., 1999). It is expressed differently in different tumor types. For example, it has been reported that it increases in some lymphomas and thyroid cancer, while it decreases in colon, breast, ovarian, and uterine cancers (Seyrek et al., 2004).

Lectins and Glycoprotein Turnover

One of the important physiological process in which lectin-carbohydrate interactions play a role is the regulation of the circulation of some glycoproteins in the serum. For example, ceruloplasmins, one of the serum glycoproteins, lose the terminal sialic acid of the carbohydrate unit over time, and the galactose residues located just below this acidic sugar take the position of the terminal monosaccharide of the carbohydrate unit (Irons et al., 2024; Seyrek and Bildik, 2001). Then, ceruloplasmins are bound by galactose-specific lectin asialoglycoprotein receptors located in the cell membranes of hepatocytes, and are taken into the liver cells by endocytosis and eliminated in the circulation (Varki et al., 2008).

Lectins, which play a beneficial role in keeping serum glycoproteins in balance, can sometimes be abused by some bacterial toxins and cause diseases that can result in death. For example, cholera toxin, via ganglioside m1, a glycolipid located in intestinal epithelial cells, and tetanus toxin, via ganglioside d in epithelial cells, use the lectins in their structures when taken into the body (Geisow, 1991).

Medicinal Applications of Lectins

There have been many studies on the use of lectins for therapeutic purposes. For example, *Viscum album*-agglutinin, VAA, a galactose-specific lectin, is widely used in tumor patients throughout Europe today (Seyrek and Bildik, 2001). *Viscum album* agglutinin is a substance with an immunomodulatory effect. It shows this effect by increasing the number and activity of immune system cells (Öztabak, 2005). It has been reported that this lectin stimulates the immune system by increasing the production of cytokines such

as Interleukin-1 and Interleukin-2 and tumor necrosis factor- α in monocytes. It has been reported that the same lectin increases intracellular Ca^{+2} levels by binding to cell surface epitopes and induces phosphorylation of certain proteins (Seyrek and Bildik, 2001). Due to these properties, *Viscum album* agglutinin has found the opportunity to be used in cancer treatment and it has been reported that many commercial preparations containing *Viscum album* agglutinin are used in different countries (Öztabak, 2005).

In order for metastasis to take place, carbohydrate residues of the metastatic cell adhere to the lectins of the target tissue. In vitro studies have reported that many human tumor cells are prevented from adhering to hepatocytes by the use of galactose or arabinogalactone (Seyrek and Bildik, 2001).

A concept developed for the use of lectins in cancer treatment is to increase the density and duration of action of anticancer drugs in tumor tissues. Chemotherapy drugs used today have many side effects on normal body cells. If drugs that are toxic to cells are given to the body after being bound with a carbohydrate unit specific for tumor tissues, the toxic substance will undoubtedly be localized in tumor cells and its effect on normal somatic cells will be minimized (Capone et al., 2021; Seyrek and Bildik, 2001).

Conclusion

Lectins are proteins that recognize carbohydrate structures. Animal lectins, which include C-type lectins, galectins, F-type lectins, Ig-type lectins, and P-type lectins are involved in many biological processes. In the last 20 years, when studies on lectins have intensified, many features have emerged that distinguish these proteins from other molecules.

The roles of lectins in cell adhesion, migration, infections, glycoprotein turnover, and the treatment of some diseases such as cancer are of great importance. Such important roles have revealed the need for more comprehensive studies on lectins.

Lectins have found a wide area of study and application in human medicine rather than veterinary medicine. Current literature

studies have revealed the fact that studies on lectins should also be applied in the field of veterinary medicine and used in the diagnosis and treatment of animal diseases, and more studies should be done on the functions of lectins.

References

Bao, M., Elmendorf, B. J., Booth, J. L., Drake, R. R. & Canfield, W. M. (1996). Bovine UDP-*N*-acetylglucosamine: Lysosomal-enzyme *N*-Acetylglucosamine-1-phosphotransferase I purification and subunit structure. *J Biol Chem*, 271 (49), 31446-31451.

Blanda, V., Bracale U. M., Di Taranto, M. D. & Fortunato, G. (2020). Galectin-3 in cardiovascular diseases. *Int J Mol Sci*, 3 (21), 9232.

Capone, E., Iacobelli, S. & Sala, G. (2021). Role of galectin 3 binding protein in cancer progression: a potential novel therapeutic target. *J Transl Med*, 26, (19), 405.

Dahms, N., Braulke, T., Varki, A. Varki, A, Cummings R. D., Esko, J. D., Stanley, P., Hart, G. W., Aebi, M., Mohnen, D., Kinoshita, T., Packer, N. H., Prestegard, J. H., Schnaar, R. L., & Seeberger. P. H. (2022). P-Type Lectins. In: *Essentials of glycobiology*. 4th ed. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Deveci, R. (2003). Lektinler ve şeker reseptörlerinin işaretlenmesi. *Birinci Ulusal Glikobiyoloji Kongresi*, 52-54.

Dumestre-Perard, C., Doerr, E., Colomb, M. G. & Loos, M. (2007). Involment of complement pathways in patients with bacterial septicemia. *Moleculer Immunology*, 44, 1631-1638.

Gabius, H. J. (1997). Animal lectins, *Eur J Biochem*, 243(3), 543–576.

Geisow, M. J. (1991). Glycobiology: A growing field for drug design. *Trends Pharmaceut Sci*, 12, 265-272.

Gong, H. C., Honjo, Y. & Nangia-Makker, P. (1999). The NH₂ terminus of galectin-3 governs cellular compartmentalisation and functions in cancer cells. *Cancer Res*, 59, 6239-6245.

Idowu, P. A., Idowu, A. P., Zishiri, O. T., Mpofu, T. J., Veldhuizen, E. J. A., Nephawe, K. A. & Mtileni, B. (2021). Activity of mannose-binding lectin on bacterial-infected chickens-A review. *Animals (Basel)*, 12, 787.

Irons, E. E., Gc, S. & Lau, J. T. Y. (2024). Sialic acid in the regulation of blood cell production, differentiation and turnover. *Immunology*, 172 (4), 517-532.

Iwabuchi, K., Ohgama, J., Ogasawara, K., Iwabuchi, C., Negishi, I., Good, R. A. & Onoe, K. (1991). Distribution of MEL-14 + cells in various lymphoid tissues. *Immunobiology*, 182, 161-173.

Matarrese, P., Fusco, O. & Tinari, N. (2000). Galectin-3 overexpression protects from apoptosis by improving cell adhesion properties. *Int J Cancer*, 85, 545-554.

McGill, N. S., Ahmed, A. N. & Christou, V. N. (1998). Endothelial cells: Role in infection and inflammation. *World J Surg*, 22, 171-178.

Öztabak, Ö. K. (2005). Lektinler ve viscum album aglutinin (VAA)'nın antikarsinojenik etkileri. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 2(1), 55-59.

Peterson, J. M., Smith, T. A., Rock, E. P. & Magnani, J. L. (2024). Selectins in biology and human disease: Opportunity in E-selectin antagonism. *Cureus*, *16*(6), e61996.

Radhakrishnan, A., Chellapandian, H., Ramasamy, P. & Jeyachandran, S. (2023). Back2Basics: Animal lectins: An insight into a highly versatile recognition protein. *J Proteins Proteom*, *14*(1), 43-59.

Ruco, L. P., Donatella, P., Pigott, R., Gearing, A. J. H., Baiocchi, A. & Baroni, C. D. (1992). Expression and cell distribution of the intercellular adhesion molecule, vascular cell adhesion molecule and endothelial cell adhesion molecule (CD31) in reactive human lymph nodes and hodgkin's disease. *Am J Pathol*, *140*, 1337-44.

Rudd, P., M., Elliott, T., Cresswell, P., Wilson, I. A. & Dwek, R. A. (2001). Glycosylation and the immune system. *Science*, *291*(5512), 2370–2376.

Sarıkaya, S. (1998). İnfeksiyonlara karşı konağın savunmasında lökosit adezyon moleküllerinin rolü. *Klinik Dergisi*, *11*(3), 75-81.

Seyrek, K. & Bildik, A. (2001). Lektinler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, (1-2), 96-100.

Seyrek, K., Çulhacı, N., Kırıl, K. F., Bildik, A. & Saraçoğlu, İ. H. (2004). Meme karsinomalarında galektin-3'ün ekspresyonu ve lokalizasyonu. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, *5*(1), 11-15.

Tsutsumi, A., Takahashi, R. & Sumida, T. (2005). Mannose binding lectin: genetics and autoimmune disease. *Autoimmunity Reviews*, *4* (6), 364-372.

Turner, M. W. (1996). Mannose-Binding Lectin: The pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunology Today*, 17(11), 532-540.

Varki, A., Cummings, R. Esko, J., Freeze, H., Stanley, P., Bertozzi, R., Hart, W. & Etzler, E. (2008). *Essentials of glycobiology*, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 75-163.

Vasta, G. R. & Ahmed, H. (2009). *Animal lectins*, New York: CRC Press, 13-28.

Worthley, D. L., Bardy, P. G. & Mullighan, C. G. (2005). Mannose binding lectin biology and clinical implications. *Internal Medicine Journal*, 35, 548-555.

Yörüker, S. & Akkuş, M. (2000). Selektinler. *Dicle Tıp Dergisi*, 27(2), 171-179.

