

TIBBİ BİYOLOJİ ALANINDA

ÖZGÜN BİLİMSEL KONULAR



Editör
ALİ BİLGİLİ



BİDGE Yayınları

Tıbbi Biyoloji Alanında Özgün Bilimsel Konular

Editör: ALİ BİLGİLİ

ISBN: 978-625-372-922-6

1. Baskı

Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL

Yayınlama Tarihi: 2025-12-25

BİDGE Yayınları

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

Sertifika No: 71374

Yayın hakları © BİDGE Yayınları

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

Krc Bilişim Ticaret ve Organizasyon Ltd. Şti.

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



ÖNSÖZ

Egzersiz, insan fizyolojisinin en güçlü düzenleyicilerinden biridir. Düzenli fiziksel aktivite yalnızca kas gücü ve dayanıklılığı artırmakla kalmaz; kardiyovasküler sistem, endokrin yapı, sinirsel ağlar ve gen ifadesi üzerinde de kalıcı değişiklikler oluşturur. Kitapta bu bölümde ele alınan bulgular, egzersizin yalnızca mekanik bir uyarı değil, gen ifadesini epigenetik düzeyde düzenleyen güçlü bir biyolojik sinyal olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca egzersizin transgenerasyonel etkileri, fiziksel aktiviteyi yalnızca bireysel değil, toplumsal düzeyde de bir “genetik sağlık yatırımı” haline getirdiğine yönelik en yeni bilimsel kaynaklara ait bilgiler yer almaktadır.

Kuproptoz, kanser hücresi büyümesini ve metastazını engellemek için kuproptozu tetikleyen yenilikçi bakırdan bağımsız nanoplatform tasarlamak için yeni bir bakış açısı sunmaktadır. Platin bazlı kemoterapi, çeşitli kanser türlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, ekzojen platin, tümör hücrelerinde GSH artışına neden olarak ciddi yan etkilere ve ilaç direncine yol açabilir; bu da kanser gelişiminin ve nüksünün yönetimini engeller. Antikanser bakır organik kompleksleri, sistemik toksik etkileri düşük ve ilaç direncini hafifleten platin bazlı kemoterapinin yerini alabilecek uygun bir aday olabileceği yönünde son yıllara ait özgün bilimsel çalışmalara ait bilgiler sunuldu.

Adiposit apoptozu adipoz dokunun fizyolojik yenilenmesinin doğal bir parçası olmakla birlikte, metabolik stres koşullarında patolojik bir sürece dönüşebilmektedir. Bu dönüşüm, yağ dokusu disfonksiyonunun yanı sıra sistemik metabolik hastalıkların gelişiminde de belirleyici rol oynamaktadır. Bu kitap bölümünde ise adiposit apoptozunu tetikleyen ve düzenleyen moleküler mekanizmaların daha iyi anlaşılması, adipoz doku inflamasyonunun ve metabolik komplikasyonların hedeflenmesine yönelik yeni

terapötik stratejilerin geliştirilmesine önemli katkılar sağlayacağı konusunda geniş kapsamlı çalışmalara değinildi.

Kanser, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşiminden kaynaklanan hastalıkların heterojen bir grubudur. Bu kitap bölümünde yeni sentezlenen moleküllerin sınıflandırılması, gelecekteki perspektifleri ile ilgili olarak özgün bilimsel çalışmalardan çok değerli bilgiler aktarıldı.

Bu kitap bölümünde ise programlı hücre ölümü ve gen transfeksiyonu kapsamında viral gen transferinde sorunların çözümlenmesi, gen transferinin düzenlenmesi, kanserin sağaltımında alternatif yaklaşımlar, erişkin kök hücreleri konuları son yıllardaki bilimsel kaynaklardan alıntılar yapılarak detaylı şekilde açıklandı.

Prof. Dr. ALİ BİLGİLİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ

İÇİNDEKİLER

EGZERSİZ GENETİĞİ: PERFORMANS VE SAĞLIKTA MOLEKÜLER KODLAR	1
<i>EMEL KABARTAN ÇÖKELİ</i>	
OBEZİTE PATOGENEZİNDE ADİPOSİT APOPTOZUNUN ROLÜ	43
<i>CANSU ÖZBAYER, EMİNE YAĞCI</i>	
KUPROPTOZDAN KUPROPLAZİYE: KANSER HÜCRELERİNDE BAKIRIN BİYOLOJİK PARADOKSU	74
<i>EMİNE YAĞCI</i>	
PROGRAMMING CELL DEATH AND CANCER TREATMENT WITH GENE TRANSFECTION	104
<i>CANDAN ALTUNTAŞ, GÖKHAN DURUKSU, YUSUFHAN YAZIR</i>	
MOLECULAR MECHANISMS OF NEWLY SYNTHESIZED MOLECULES IN CANCER TREATMENT ..	127
<i>AYŞE NUR COSKUN DEMİRKALP</i>	

BÖLÜM 1

EGZERSİZ GENETİĞİ: PERFORMANS VE SAĞLIKTA MOLEKÜLER KODLAR

EMEL KABARTAN ÇÖKELİ¹

Giriş

Egzersiz, insan fizyolojisinin en güçlü düzenleyicilerinden biridir. Düzenli fiziksel aktivite yalnızca kas gücü ve dayanıklılığı artırmakla kalmaz; kardiyovasküler sistem, endokrin yapı, sinirsel ağlar ve gen ifadesi üzerinde de kalıcı değişiklikler yaratır.

Günümüzde egzersiz, genetik ve epigenetik faktörlerin birlikte çalıştığı dinamik bir biyolojik süreç olarak tanımlanmaktadır. Bireyin egzersize vereceği yanıtın, büyük kısmından genetik yapı sorumludur. Ancak gen dizilimi sabit olsa da gen ifadesi çevresel faktörlere duyarlıdır.

Egzersiz, epigenetik düzenlemeler yoluyla bu ifadeyi değiştirebilir. Böylece hücre enerji üretimini, kas yenilenmesini ve stres yanıtını yeniden düzenler.

Bu bölüm, egzersiz fizyolojisi ve genetik arasındaki ilişkiyi temel prensiplerden klinik uygulamalara uzanan bir çerçevede ele

¹ Dr. Öğretim Üyesi, Ordu Üniversitesi, Ulubey MYO, Orcid: 0000-0002-6289-2310

almakta; yeni genetik belirleyiciler, epigenetik mekanizmalar ve gelecekte yeni teknolojilerden yararlanılarak uyarlanabilecek kişiselleştirilmiş egzersiz stratejilerini literatürle destekleyerek tartışmaktadır.

Egzersiz Fizyolojisi ve Kalıtım

Egzersiz fizyolojisi, insan vücudunun fiziksel aktiviteye karşı verdiği kısa ve uzun vadeli tepkileri inceleyen multidisipliner bir bilim dalıdır. Bu multidisipliner alanın temel amacı, egzersiz sırasında meydana gelen fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler süreçleri anlamak ve bu bilgiyi performansın artırılması, sağlık durumunun iyileştirilmesi ve hastalık riskinin azaltılması için kullanmaktır.

Kas hücrelerinde meydana gelen mekanik gerilim, oksijen tüketimindeki artış, enerji metabolizmasındaki yeniden düzenlenme ve endokrin geri bildirimler; gen ekspresyonu ve protein sentezi üzerinde doğrudan etkiler oluşturur (Soci vd., 2017:281). Günümüzde egzersizin sadece mekanik bir stres değil, aynı zamanda hücresel düzeyde sinyal yollarını aktive eden güçlü bir biyolojik uyarıcı olduğu kabul edilmektedir (Selin YILDIRIM vd., 2022:357).

Egzersiz fizyolojisi, genetik altyapı ve çevresel faktörlerin karşılıklı etkileşimine dayalı karmaşık bir biyolojik sistemdir. Maksimal oksijen tüketimi ($VO_2\text{max}$), kas lifi tipi, enerji metabolizması ve epigenetik düzenleme gibi kavramlar, bireysel performans farklılıklarının anlaşılmasında temel anahtarları oluşturur. Bu bilgiler ışığında, egzersiz bilimi artık yalnızca “kas ve kalp” düzeyinde değil, aynı zamanda genetik ve epigenetik ağların bütünlüğü içinde değerlendirilmektedir.

Egzersizde Bireysel Performans

Egzersiz sırasında kardiyak debi, solunum frekansı ve kan akımı artar; bu da oksijenin dokulara taşınmasını kolaylaştırır.

Oksijen taşıma kapasitesi, egzersiz performansının en güçlü göstergelerinden biri olan VO_2 max ile temsil edilir. VO_2 max, hem kardiyorespiratuvar hem de hücresele düzeyde oksidatif kapasitenin bir ölçüsüdür (Hall vd., 2021:1858). VO_2 max değerin belirlenmesinde hem çevresel (antrenman, yaş, beslenme) hem de genetik faktörler etkilidir. “HERITAGE Family Study”de 500’den fazla bireyde 20 haftalık standart aerobik antrenman sonrası VO_2 max artışının bireyler arasında %0 ile %50 arasında değiştiği gösterilmiş ve bu varyansın %50–60’ının genetik faktörlere bağlı olduğu rapor edilmiştir (Bouchard vd., 1999:1003). Bu bulgu, egzersize yanıtın yüksek oranda kalıtsal olduğunu ve belirli genetik profillerin aerobik performansta avantaj sağladığını göstermiştir.

Kas dokusu, Tip I (yavaş kasılan, oksidatif) ve Tip II (hızlı kasılan, glikolitik) lifler olmak üzere enerji üretim stratejisine göre iki temel lifi içerir. Tip I lifler uzun süreli düşük yoğunluklu aktivitelerde (ör. maraton koşusu) görev alırken, Tip II lifler kısa süreli yüksek yoğunluklu aktivitelerde (ör. sprint) etkindir (Karip & Balcioglu, 2021:266). Bu farklılık hem nöromüsküler kontrol hem de mitokondriyal yoğunluk, kapiller yoğunluk ve enerji substrat kullanımıyla ilişkilidir.

Enerji metabolizması fosfajen sistemi (ATP–PCr), glikolitik ve aerobik oksidatif sistem olarak üç ana sistem üzerinden yürütölür. Kısa süreli egzersizlerde enerji gereksinimi ATP ve kreatin fosfat depolarından karşılanırken, uzun süreli egzersizlerde aerobik metabolizma baskın hale gelir. Bu enerji sistemlerinin kullanım oranı hem antrenman düzeyine hem de genetik belirleyicilere bağlıdır (Huang vd., 2024:159).

Egzersiz Performansında Genetik Varyasyonların Rolü

Egzersiz performansı, organizmanın kardiyovasküler, solunumsal, kas-iskelet ve nöroendokrin sistemlerinin koordineli çalışmasının bir sonucudur. Ancak bu sistemlerin işleyiş düzeyi

bireyden bireye farklılık gösterir. Bu farklılığın önemli bir bölümü, genetik varyasyonlar olarak tanımlanan DNA dizisi farklılıklarından kaynaklanır. Genetik varyasyonlar, kas gelişimi, enerji üretimi, oksijen taşınması, nöromusküler iletim ve metabolik yanıt gibi süreçlerin bireysel farklılıklarını belirler.

Şimdiye kadar yüzlerce gen fiziksel performansla ilişkilendirilmiştir (Ahmetov & Rogozkin, 2009:43; Bıçakçı vd., 2024:13041; Eynon vd., 2013:803; Kim vd., 2021:40). Ancak genel kabul tek bir genin performansı belirlemediği; çoklu genlerin ve bunların çevresel faktörlerle etkileşiminin performans fenotipini oluşturduğu yönündedir. Bu bağlamda poligenik modelin (Tynkkyne vd., 2023:995), egzersiz genetiğinin temelini oluşturduğu söylenebilir.

Aynı programı uygulayan iki bireyin kardiyovasküler veya kas adaptasyonu, genetik altyapılarına bağlı olarak tamamen farklı düzeyde olabilir (Leońska-Duniec vd., 2018:134; Rankinen vd., 2010:835). Ahmetov ve arkadaşları (2009), 9 veya daha fazla “dayanıklılık aleli” taşıyan bireylerin elit sporcular arasında %85,7 oranında görüldüğünü; kontrol grubunda ise bu oranın yalnızca %37,8 olduğunu bildirmiştir. Bu, poligenik mirasın dayanıklılık performansında belirleyici olduğunu gösteren öncü bir çalışmadır.

Egzersiz sırasında aktive olan AMP-Activated Protein Kinase (AMPK), Peroksisom proliferatör-aktifleştirilmiş reseptör gama koaktivatörü 1-alfa (PPARGC1A/PGC-1 α), Sirtuin 1 (SIRT1), Mammalian target of rapamycin (mTOR) ve Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) gibi hücrel sinyal yolları hem enerji metabolizmasını hem de antioksidan savunmayı düzenler (Barrès vd., 2012:405; Cantó vd., 2010:213; Giacomello vd., 2025:969). Bu yolların genetik varyasyonları, egzersiz performansındaki bireysel farklılıkları açıklamada önemli rol oynar. Örneğin, Enerji metabolizmasının düzenlenmesinde Peroksisom proliferatör aktive reseptörleri (PPAR) ailesi kilit rol oynar.

Mitokondriyal biyogeneze görevli PGC-1 α , dayanıklılık antrenmanına yanıt olarak aktifleşir ve oksidatif kapasitenin artışı sağlar (Barrès vd., 2012:405; Dong vd., 2024:105260). PPARGC1A varyantlarının mitokondriyal biyogeneze ve enerji dengesi (Lucia vd., 2005:344; Varillas-Delgado, 2024) üzerindeki farklı etkileri bir başka önemli örnektir.

Angiotensin-converting enzyme (*ACE*), Alpha-actinin-3 (*ACTN3*), *PPARGC1A*, Peroxisome proliferator-activated receptor delta (*PPARD*), Myostatin (*MSTN*), Vascular endothelial growth factor A (*VEGFA*) ve Fat mass and obesity-associated protein (*FTO*), Monocarboxylate transporter 1 (*MCT1*) gibi genler; dolaşım, kas gücü, enerji metabolizması ve vücut kompozisyonu üzerinde belirleyici etkilere sahiptir. Ancak bu genlerin etkisi, çevresel faktörler, antrenman yoğunluğu ve epigenetik düzenlemelerle birlikte anlam kazanır. Bu nedenle, “genetik potansiyel” sabit bir kader değil; doğru antrenman ve yaşam tarzı seçimleriyle optimize edilebilen dinamik bir biyolojik kapasitedir.

ACE: Dolaşım ve Kas Oksijenasyonu

Egzersiz genetiğinde sık incelenen genlerden biri *ACE* genidir. ACE, renin-anjiyotensin sisteminin temel bileşenidir ve kan basıncı, damar tonusu, kas kan akımı ve sıvı dengesi üzerinde önemli rol oynar. *ACE* genindeki insersiyon/delesyon (I/D) polimorfizmi, özellikle dayanıklılık ve güç performansını ayırt etmede en çok incelenen genetik belirteçtir (Sommers vd., 2024:1439).

I/D (insersiyon/delesyon) polimorfizmi, kardiyovasküler fonksiyonları ve kan basıncını etkiler. I aleli, düşük ACE aktivitesiyle ilişkilendirilmiş ve dayanıklılık sporcularında daha sık saptanmıştır. Buna karşılık D aleli, yüksek ACE aktivitesiyle ilişkilendirilmiş ve güç gerektiren spor dallarında avantaj sağlamıştır (Erkan vd., 2022:1). Hatta yüksek irtifa koşullarında I/I genotipine sahip bireyler oksijen saturasyonunu daha iyi korurlarken (Hennis

vd., 2015:745) D/D genotipi kan basıncı artışı ve anaerobik kapasiteyle ilişkilidir (Moreira vd., 2018:57). Bu nedenle ACE polimorfizmi hem kardiyovasküler adaptasyonu hem de kas dokusunun oksijen kullanım verimliliğini etkiler (Ahmad Yusof & Che Muhamed, 2021:57).

ACTN3: Kas Lifi Tipi ve Güç Üretimi

Bir diğer önemli gen ACTN3 genidir. Bu gen, hızlı kasılan Tip II kas liflerinde bulunan yapısal bir protein olan α -aktinin-3'ü kodlar. R577X polimorfizmi, bireyin kas fonksiyonunda ve özellikle patlayıcı güç performansında belirleyici bir faktördür (Ma vd., 2013:e54685; MacArthur & North, 2007:30).

ACTN3 R577X polimorfizminde RR genotipi fonksiyonel α -aktinin-3 proteininin tam olarak üretilmesini sağlar ve hızlı Tip II kas liflerinin yapısal bütünlüğünü artırarak güçlü ve hızlı kas kontraksiyonlarında belirgin avantaj yaratır. RX genotipi ise proteinin yaklaşık yarısı kadar üretilmesiyle orta düzeyde avantaj sağlar. XX genotipi ise fonksiyonel α -aktinin-3 proteini hiç üretmez; bu nedenle elit sprint ve güç sporcularında oldukça nadirdir (Eynon vd., 2013:803; N. Yang vd., 2003:627; Zouhal vd., 2023:359).

Bu nedenle ACTN3'ün RR ve RX genotipleri, sprint, halter, atlama, fırlatma, futbol gibi kısa süreli patlayıcı güç ve hız gerektiren spor dallarında üstün performansla ilişkilendirilir. XX genotipi ise α -aktinin-3 eksikliği nedeniyle bu tür patlayıcı güç gerektiren elit spor dallarında neredeyse hiç görülmezken, dayanıklılık sporcularında daha sık rastlanır ve göreceli olarak daha yüksek oranda oksidatif metabolizma özelliklerine sahip kas fenotipine katkıda bulunur (Broos vd., 2016:e0150594; El Ouali vd., 2024:1).

Elit Türk sporcularında yapılan bir çalışmada, güç sporcularında RR genotipinin %61, dayanıklılık sporcularında ise XX genotipinin %29 oranında bulunduğu bildirilmiştir (Şanlısoy vd., 2011:153). Bu dağılım, R alelinin (RR + RX) patlayıcı güç

performansında, X alelinin ise dayanıklılık yönelimli sporcularda göreceli olarak daha sık görüldüğünü doğrulamaktadır.

ACTN3 gen varyasyonu böylece sadece performansı değil, aynı zamanda egzersiz tipi seçimini ve elit sporcu potansiyelini öngörmede kullanılan en güçlü genetik biyobelirteçlerden biri olmayı sürdürmektedir.

PPARGC1A ve PPAR δ : Mitokondriyal Biyogenez ve Yağ Asidi Oksidasyonu

Özellikle *PPARGC1A*, mitokondriyal biyogenez, oksidatif fosforilasyon ve kas dayanıklılığı ile yakından ilişkilidir (Dong vd., 2024:105260; Lucia vd., 2005:344; Varillas-Delgado, 2024). Örneğin, Gly482Ser polimorfizmi, aerobik kapasiteyi belirleyen en önemli varyantlardan biridir (Nishida vd., 2015:359). Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ (*PPAR- δ*) geni ise yağ asidi oksidasyonu ve enerji homeostazında etkilidir (Nazari vd., 2024:136944).

Bu genlerin egzersizle uyarılan aktivasyonu, kas dokusunda mitokondri sayısının artışı ve enerji verimliliğinin yükselmesiyle sonuçlanır. PGC-1 α ayrıca Nuclear respiratory factor 1 (NRF1), Mitochondrial transcription factor A (TFAM) ve SIRT1 gibi diğer mitokondriyal genlerin ekspresyonunu da düzenler, bu da dayanıklılık adaptasyonunun temel moleküler mekanizmasını oluşturur (Barrès vd., 2012:405).

FTO ve MSTN: Vücut Kompozisyonu ve Kas Kütlesi

FTO, enerji alımı ve yağ depolanmasıyla ilişkilidir. Genin rs9939609 polimorfizmi, obeziteye yatkınlıkla ilişkilendirilmiştir. Ancak düzenli egzersiz, bu genetik riskin etkilerini azaltabilir. Kilpeläinen ve arkadaşları (2011), düzenli fiziksel aktivitenin *FTO*'nun obeziteye etkisini %40 oranında düşürdüğünü göstermiştir (Kilpeläinen vd., 2011:e1001116).

Buna karşılık *MSTN*, kas büyümesini sınırlayan bir inhibitör proteini kodlar (Lee, 2007:475). *MSTN*'nin K153R polimorfizmi, proteinin aktivitesini azaltır ve kas hipertrofisini kolaylaştırır (Lee, 2007:475). Bu nedenle *MSTN* varyasyonları, özellikle kuvvet sporcularında performans avantajı sağlayabilir (Kruszewski & Aksenov, 2022:2055).

Bu genlerin etkileşimi, vücut kompozisyonu ve antrenman uyumunu doğrudan etkiler. *FTO* varyantı enerji dengesini, *MSTN* varyantı ise kas proteini sentezini düzenler. Her iki gen de hem performans hem de sağlık açısından önemli biyobelirteçlerdir.

***VEGFA*, *MCT1* ve *NRF2*: Dolaşım, Metabolizma ve Antioksidan Savunma**

VEGFA, kas dokusunda yeni kapiller damar oluşumunu sağlayan bir büyüme faktörüdür. *VEGFA* rs2010963 varyantı, dayanıklılık antrenmanına yanıt olarak artan damarlaşma kapasitesini belirler (Boidin vd., 2023:119). Boidin ve arkadaşları (2023), bu varyantın kas oksijenasyonunu artırdığını ve aerobik performansla pozitif ilişkili olduğunu rapor etmiştir.

MCT1, laktat taşınmasında görev alır. Genin rs1049434 polimorfizmi, laktat klirens hızını etkileyerek yüksek yoğunluklu egzersiz toleransını artırır (Cupeiro vd., 2010:526). *MCT1* ekspresyonunun yüksek olduğu bireylerde anaerobik yorgunluğa direnç artışı gözlenmiştir.

NRF2, hücrel antioksidan savunmanın ana düzenleyicisidir (Bellezza vd., 2018:721). Egzersiz, *NRF2* yolunu aktive ederek oksidatif stresle ilişkili genlerin ekspresyonunu artırır. Bu genetik mekanizma, dayanıklılıkla ilişkili “metabolik esneklik” kavramının temelini oluşturur (Barrès vd., 2012:405).

Poligenik Model ve Performans Profillemesi

Fizyolojik parametreleri etkileyen çok sayıda hücreyel yolak ve gen söz konusuyken tek bir genin performansı açıklamakta yetersiz olduğu görölmektedir (İi vd., 2015:3; Selin YILDIRIM vd., 2022:357). Bu nedenle son yıllarda “poligenik skorlama” yaklaşımı geliştirilmiştir. Poligenik skor, bireyin performans potansiyelini belirleyen çok sayıda gen varyantının etkisinin toplulaştırılmış bir ölçüsüdür (Plomin & von Stumm, 2021:49).

Örneğin ≥ 9 dayanıklılık aleline sahip bireylerin elit atlet grubunda %85’in üzerinde olduğu bildirilmiştir (Ahmetov & Rogozkin, 2009:43). Bouchard (2015), bu tür poligenik modellerin antrenman yanıtını %65–70 oranında öngörebildiğini belirtmiştir (Bouchard, 2015:1492).

Bu yaklaşım, kişiselleştirilmiş egzersiz reçetelerinin tasarımında devrim niteliğindedir. Genetik profillemeye ile bireylerin “dayanıklılık tipi” veya “güç tipi” egzersizlere biyolojik olarak ne kadar uygun oldukları belirlenebilir.

Egzersizin Çok Yönlü Etkisi ve Epigenetik Mekanizmalar

Düzenli fiziksel aktivite, sadece kas sisteminde değil; bağışıklıkta, hormonal, kardiyak ve nörolojik sistemlerde de olumlu etkiler oluşturur (Fan & Xu, 2020:63). Örneğin yaşlanmayla azalan bağışıklık fonksiyonlarını güçlendirir ve antioksidan savunma sistemini destekler (Hood vd., 2019:19; KOÇ, 2023:10). Düşük yoğunluklu uzun süreli egzersizin stres hormonlarını dengelerken ve hipotalamo-hipofiz-adrenal aksının daha stabil çalışmasını sağladığı belirtilmektedir (Civan vd., 2018:1).

Egzersizin etkileri yalnızca fizyolojik düzeyde kalmaz; aynı zamanda gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynayan epigenetik mekanizmaları da etkiler. Epigenetik, DNA dizisinde herhangi bir değişiklik olmadan genlerin ifade düzeylerinin kalıcı biçimde düzenlenmesini sağlayan süreçleri tanımlar. Bu düzenleme DNA metilasyon düzenlemeleri, histon modifikasyonları ve mikroRNA

(miRNA) gibi kodlanmayan RNA'lar aracılığıyla gerçekleşir (Soci vd., 2017:281).

Bu düzenlemeler, kas adaptasyonu, enerji kullanımı ve oksidatif stres yanıtı üzerinde uzun vadeli etkiler yaratır (Denham vd., 2014:189; Plaza-Diaz vd., 2022:126). Bu alandaki ilerlemeler, antrenman programlarının genetik profile göre kişiselleştirilmesine olanak sağlayabilir.

Egzersiz, bu üç temel epigenetik mekanizma üzerinde etkili olarak, kas adaptasyonu, metabolik denge, oksidatif stres kontrolü ve hatta kuşaklar arası kalıtılabilir değişiklikler oluşturabilir (Costa-Júnior vd., 2022:1; Jacques vd., 2019:633).

DNA Metilasyonu ve Gen İfadesinin Yeniden Programlanması

DNA metilasyonu, sitozin nükleotidlerinin 5. karbonuna metil grubu eklenmesiyle oluşur ve transkripsiyonel baskılamayla ilişkilidir. Egzersiz, bu etkiyi modüle edebilen dinamik bir süreç olarak davranabilmektedir (Barrès vd., 2012:405; Costa-Júnior vd., 2022:1; Jacques vd., 2019:633).

DNA metilasyonu, genellikle gen ifadesinin baskılanmasıyla ilişkili temel bir epigenetik mekanizmadır ve egzersiz bu yapıyı dinamik biçimde etkileyebilen güçlü bir çevresel uyandır. Hem akut hem de düzenli egzersizin DNA metilasyon paternlerini yeniden şekillendirdiği pek çok çalışmayla gösterilmiştir (Bittel & Chen, 2024:1419; Rönn vd., 2013:e1003572; Spindler vd., 2019:491). Rönn ve arkadaşları (2013), altı aylık aerobik antrenman uygulanan bireylerin subkutan yağ dokusunda 17.000'den fazla CpG bölgesinde anlamlı metilasyon değişimi bildirmiş, bu değişikliklerin özellikle lipogenez, insülin duyarlılığı ve mitokondriyal biyogenezle ilişkili genlerde yoğunlaştığını belirtmiştir. Bu bulgular, egzersizin metabolik gen ifadesi üzerinde kalıcı epigenetik etkiler yarattığını göstermektedir.

Dayanıklılık egzersizinde enerji metabolizması ve kas kontraksiyonuyla ilişkili genlerde promotör hipometilasyonu sık görülürken, direnç egzersizinde inflamatuvar yolak genlerinde zaman zaman hipermetilasyon olduğu yönünde kayıtlar dikkati çekmektedir (Jacques vd., 2019:633). Egzersizle birlikte *PGC-1 α* , Pyruvate dehydrogenase lipoamide kinase isozyme 4 (*PDK4*) ve *PPAR- δ* gibi metabolizmanın temel düzenleyicilerinde hızlı hipometilasyon oluşması, bu genlerin ekspresyonunu artırarak mitokondriyal biyogenezi destekler (Barrès vd., 2012:405).

Egzersizin süresi de epigenetik yanıta etkilidir Akut egzersiz gen ekspresyonunda hızlı bir hipometilasyon yanıtı oluştururken, düzenli antrenman bu etkileri daha kalıcı hale getirir (Voisin vd., 2015:39).

Egzersizin epigenetik etkileri dokuya özgü nitelik taşır. Egzersizin DNA metilasyonu üzerindeki düzenleyici etkilerinin metabolik sendrom, obezite, diyabet ve bazı nörolojik bozuklukların riskini azaltabilir (García-Giménez vd., 2024:123; Gomez-Pinilla & Thapak, 2024:43; Światowy vd., 2021:12989). Böylelikle epigenetik yeniden programlamanın yalnızca performans açısından değil, sağlık açısından da önemli olduğu söylenebilir (Denham, 2018; X. Yang vd., 2025:179; Zheng vd., 2025:12)

Yani kısaca, egzersiz DNA metilasyonu aracılığıyla gen ifadesini sistematik biçimde yeniden düzenleyen güçlü bir biyolojik uyarıcı olup, kas gelişimi, enerji metabolizması ve kardiyovasküler fonksiyonlarda geniş kapsamlı adaptasyonlar sağlar.

Histon Modifikasyonları ve Kromatin Dinamikleri

Histonlar, DNA'nın etrafına sarılarak kromatin yapısını oluşturan temel proteinlerdir ve üzerlerindeki asetilasyon, metilasyon ve fosforilasyon gibi kimyasal değişiklikler genlerin erişilebilirliğini belirler. Egzersiz, bu histon modifikasyonlarını etkileyebilen güçlü bir epigenetik uyarıcı olup, özellikle asetilasyon

düzeylerinde artışa neden olarak gen ifadesini kolaylaştırır (Soci vd., 2017:281; Widmann vd., 2019:509).

Soci ve arkadaşları (2017), düzenli egzersizin hem kalp hem de iskelet kasında H3K9/14 asetilasyonunu artırdığını ve bunun *PGC-1 α* ekspresyonundaki yükselişle uyumlu olduğunu göstermiştir. Widmann ve arkadaşları (2019) dayanıklılık antrenmanları ve Yüksek Şiddetli Aralıklı Antrenman (High Intensity Interval Training, HIIT) sonrasında ve H3K27 asetilasyonunda belirgin artışlar olabildiğini belirtmiş ve bu değişikliklerin de kas yenilenmesi ve miyofibril senteziyle ilişkili genlerle ifade artışıyla paralel olduğuna dikkat çekmiştir (Widmann vd., 2019:509). Daha sonra H3K4 trimetilasyonunun egzersiz adaptasyonunda da belirleyici epigenetik düzenlemelerden biri olduğu gösterilmiştir (Shimizu & Kawano, 2022:3331).

Histon modifikasyonları dokuya özgü özellik gösterebilir. Hızlı ve yavaş kasılan kaslarda aktif histon işaretlerinin dağılımı değişkenlik gösterirken, kısa süreli aerobik egzersizlerin hipokampusta Histon deasetilaz (Histone deacetylases, HDAC) aktivitesini azaltıp Histon asetilaz (Histone acetylases, HAT) aktivitesini artırdığı ve bunun histon hiperasetilasyonuna yol açtığı görülmüştür (Elsner vd., 2017:387; Saleem & Safdar, 2010:905).

Egzersiz sırasında ortaya çıkan oksijen tüketimi, TCA döngüsü metabolitleri ve β -hidroksibutirat düzeylerindeki artış gibi metabolik değişimler, epigenetik enzimleri doğrudan etkileyerek histon modifikasyonlarını şekillendirir (Pareja-Galeano vd., 2014:429). Bu nedenle histon modifikasyonları, egzersizin metabolik sinyallerle bağlantı kurduğu önemli bir düzenleme katmanıdır. Egzersiz kaynaklı histon düzenlemelerinin metabolik hastalıklar, kardiyovasküler bozukluklar ve bazı kanser türleri için koruyucu bir rol üstlenebilir (Plaza-Diaz vd., 2022:126).

Sonuç olarak egzersiz, histon modifikasyonları aracılığıyla kromatin yapısını daha açık hale getirerek gen ifadesini artırır ve böylece kas adaptasyonu, enerji metabolizması ve nörolojik fonksiyonlarda uzun süreli biyolojik iyileşme sağlar.

MikroRNA'lar ve Post-transkripsiyonel Düzenleme

MikroRNA'lar (miRNA'lar), gen ifadesini transkripsiyon sonrası düzeyde kontrol eden küçük RNA molekülleridir ve egzersizin oluşturduğu moleküler adaptasyonların önemli bileşenlerinden biridir. miRNA'lar hedef mRNA'lara bağlanarak onların translasyonunu baskılar veya yıkımını hızlandırır; böylece kas yapımı, inflamasyon, mitokondriyal fonksiyon ve oksidatif stres gibi süreçlerin ince ayarında kritik bir rol üstlenir (Domańska-Senderowska vd., 2019:227; Jacques vd., 2019:633).

Egzersizin miRNA'ları güçlü şekilde modüle ettiği pek çok çalışmada gösterilmiştir. Denham ve arkadaşları (2014), altı aylık düzenli antrenmandan sonra plazmada miR-1, miR-133a, miR-378 ve miR-29a düzeylerinde belirgin artışlar rapor etmiştir. Bu miRNA'lar kas rejenerasyonu, hücre döngüsü düzenlenmesi ve enerji metabolizmasıyla ilişkili genleri hedeflemektedir (Denham vd., 2014:189). Benzer şekilde Barrón-Cabrera ve arkadaşları (2019), direnç egzersizi yapan katılımcılarda miR-451, miR-26a ve miR-29b artışının kas hipertrofisi ve oksidatif kapasite ile pozitif korelasyon gösterdiğini saptamıştır (Barrón-Cabrera vd., 2019:25).

Egzersiz sonrası bazı miRNA'ların geçici olarak azalması da adaptasyon sürecinin bir parçasıdır. Fabre ve arkadaşları (2018), akut egzersizden sonra adipoz dokuda miR-221 ve miR-222 düzeylerinin ilk iki saat içinde düştüğünü, ancak 24 saat sonunda başlangıç seviyelerine geri döndüğünü göstermiştir. Bu bulgu, egzersizin obezite ilişkili epigenetik düzenlenmesi yanı sıra miRNA yanıtının hem hızlı hem de geri dönüşümlü olduğunu ortaya koymaktadır (Fabre vd., 2018:1033). Egzersizle indüklenen miRNA'ların önemli

bir bölümü dolaşıma eksozomlar aracılığıyla salınır. Bu dolaşımdaki miRNA'lar yalnızca iskelet kasında değil, beyin gibi uzak organlarda da gen ifadesini etkileyebilen sistemik sinyal molekülleri olarak işlev görür (Fan & Xu, 2020:63; Fernandes vd., 2018:1711).

Egzersiz miRNA modülasyonu, post-transkripsiyonel gen düzenlemesini yeniden şekillendirerek hem performans adaptasyonlarını hem de uzun dönemli hatta kuşaklararası sağlık sonuçlarını etkileyebilir (Costa-Júnior vd., 2022:1). Düzenlenen miRNA'ların enerji metabolizması, hücrel stres yanıtı, inflamasyon ve kas onarımı ile ilişkili yollarda kritik düzenlemeler yaptığı gösterilmiştir. Bu nedenle miRNA profillerinin kronik hastalıkların önlenmesi açısından klinik öneme sahip olduğunu egzersize yanıtın biyobelirteci olarak potansiyel taşıdığını söyleyebiliriz.

Sonuç olarak, miRNA'lar egzersizin moleküler etkilerinin merkezinde yer alan, dokuya özgü ve zamana duyarlı düzenleyici moleküllerdir. Hem akut hem kronik egzersiz, bu küçük RNA'ların ekspresyonunu değiştirerek kas adaptasyonu, metabolik sağlık ve sistemik iletişim üzerinde güçlü bir epigenetik düzenleme sağlar.

Egzersiz Dokuya Özgü Epigenetik Yanıtı ve Epigenetik Hafıza

Egzersiz, yalnızca iskelet kasında değil, yağ dokusu, kalp, beyin, kan hücreleri ve hatta spermde bile dokuya özgü epigenetik değişiklikler oluşturur (Denham, 2018; Plaza-Diaz vd., 2022:126). İskelet kasında enerji metabolizması ve mitokondriyal biyogenezle ilişkili genlerde metilasyon ve histon modifikasyonları belirgin şekilde değişirken, yağ dokusunda lipogenez ve insülin duyarlılığıyla bağlantılı genlerde yeniden şekillenme görülür. Sperm hücrelerinde egzersiz sonrası meydana gelen epigenetik değişikliklerin fertilitéyle ilişkili genleri etkilemesini ve hatta transgenerasyonel etki olasılığını gündeme getirmiştir (Costa-Júnior vd., 2022:1; Denham, 2018; Freitas-Dias vd., 2022:120239; Spindler

vd., 2019:491). Beyinde “Brain-Derived Neurotrophic Factor” (*BDNF*) geninde görülen hipometilasyon, düzenli fiziksel aktivitenin nöroplastisiteyi artıran önemli bir dokuya özgü yanıtıdır (Gomez-Pinilla vd., 2011:383).

“Epigenetik hafıza” kavramı ise kas hücrelerinin geçmiş egzersiz deneyimlerini “hatırlayarak” sonraki egzersizlere daha hızlı uyum sağlamasını açıklar (Jacques vd., 2019:633). Freitas-Dias ve arkadaşları (2021), egzersiz yapan bireylerin kas dokularında *PGC-1 α* promotor bölgesinde hipometilasyonun uzun süre korunduğunu bildirmiştir. Bu durum, egzersizin bırakılmasından haftalar sonra bile metabolik genlerin yüksek düzeyde aktif kalmasını sağlar (Freitas-Dias vd., 2022:120239).

Gomez-Pinilla ve arkadaşları (2024), bu hafızanın metabolik ara ürünlerin epigenetik enzimleri düzenlemesiyle oluştuğunu belirtirken; Pareja-Galeano vd. (2014) oksijen tüketimi, TCA döngüsü ara ürünleri ve β -hidroksibutirat gibi metabolitlerin epigenetik modifikasyonları doğrudan etkilediğini vurgulamaktadır (Gomez-Pinilla & Thapak, 2024:43; Pareja-Galeano vd., 2014:429). Böylece egzersiz, metabolik sinyaller ve epigenetik enzimler arasındaki etkileşim yoluyla farklı dokularda kalıcı uyum sağlayan çok katmanlı bir epigenetik düzenleme mekanizması oluşturur.

Egzersizin Oksidatif Stres, DNA Hasarı ve Onarım Üzerindeki Etkileri

Egzersiz, DNA bütünlüğünü hem tehdit eden hem de koruyan çift yönlü biyolojik bir uyarandır. Fiziksel aktivite sırasında artan enerji gereksinimi, mitokondriyal oksidatif fosforilasyonu hızlandırır ve bunun bir sonucu olarak reaktif oksijen/nitrojen türleri (RONS) artar (Cobley vd., 2015:249). RONS üretimi, fizyolojik düzeylerde hücresel iletişim ve adaptasyon için gereklidir; ancak aşırı seviyelerde DNA baz modifikasyonlarına, tek ve çift zincir kırıklarına yol açabilir. Egzersizin DNA hasarı üzerindeki etkisi,

egzersizin yoğunluğu, süresi ve bireyin mitokondriyal kapasitesi gibi faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösteren çok boyutlu bir süreçtir.

Egzersiz, DNA hasarı üzerinde hem risk hem de koruyucu mekanizmalar barındıran çok boyutlu bir biyolojik süreçtir. Egzersiz sırasında artan oksijen tüketimi mitokondriyal solunumu hızlandırır ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini yükseltir. Orta düzeyde ROS üretimi, NRF2 ve PGC-1 α gibi düzenleyici faktörleri aktive ederek adaptif bir antioksidan yanıt oluşturur (Bellezza vd., 2018:721; Powers vd., 2024:780). Ancak aşırı yoğunlukta yapılan egzersiz, hücrel savunma kapasitesini aşarak lipid, protein ve DNA seviyesinde oksidatif hasara neden olabildiği için ROS'un egzersiz sırasında etkisi doza bağlı çift yönlü bir özellik taşır (He vd., 2016:486).

Egzersizin DNA hasarına etkisi uzun yıllar boyunca “düşük–orta yoğunluklu egzersiz koruyucu, yüksek yoğunluklu egzersiz hasar vericidir” diyen hormesis modeli ile açıklanmıştır (Radak vd., 2017:285). Ancak Tryfidou et al. (2019), bu yaklaşımın eksik olduğunu belirterek metabolik durum, antrenman geçmişi, epigenetik profil, inflamasyon ve mitokondriyal kapasitenin dahil olduğu çok boyutlu bir model önermiştir.

Bu kapsamda egzersiz:

- Akut olarak geçici DNA hasarı oluşturur,
- Kronik olarak DNA onarımını, antioksidan savunmayı ve hücrel dayanıklılığı artırır,
- Epigenetik hafıza oluşturarak bu etkileri uzun süre korur.

Akut Egzersiz ve Geçici DNA Hasarı

Akut yüksek yoğunluklu egzersiz, kısa süreli DNA hasarında artışa yol açabilir. Özellikle ≥ 75 VO₂max seviyesinde yapılan egzersizlerde DNA hasarının belirgin düzeyde artabilir (Tryfidou

vd., 2019:129). Ancak egzersiz sonrası PARP-1, OGG1 ve APE1 gibi DNA onarım enzimleri aktive olur ve hasar hızla azalır. Kılıç Toprak vd. (2019), izokinetik egzersiz sonrası 24–48 saat içinde DNA bütünlüğünün onarıldığını göstermiştir (Kılıç-Toprak vd., 2019:33). Düzenli egzersiz ise DNA kırıklarını azaltarak genom stabilitesini güçlendirir (Denham vd., 2024:869; Dimauro vd., 2017:4137).

Yüksek yoğunluklu akut egzersiz, kısa süre içinde RONS üretimini dramatik biçimde artırarak DNA hasarını tetiklediği gösterilmiş (Fogarty vd., 2011:35) olsa da Tryfidou ve ark. (2019) tarafından yapılan meta-analizde, akut aerobik egzersizden hemen sonra artan DNA hasarının 2–24 saat arasında devam ettiği fakat birkaç gün sonra normale döndüğü vurgulanmıştır. Bu nedenle akut DNA hasarı, egzersizin zararlı bir sonucu olmaktan ziyade hücrel adaptasyonun bir bileşeni olarak değerlendirilir.

Düzenli Egzersiz ve DNA Hasar Onarımı

Vücutta SOD, CAT, GPx gibi enzimatik savunma sistemleri oksidatif stresle mücadelede kritik rol oynar. Düzenli fiziksel aktivite bu sistemlerin aktivitesini artırarak daha güçlü bir antioksidan kapasite oluşturur. Haftada en az üç kez orta-düşük yoğunluklu düşük yoğunluklu yürüyüş programının SOD ve GPx aktivitelerini yükselttiğini ve oksidatif stres indeksini azalttığını göstermiştir. Bu adaptif yanıtın temelinde AMPK–PGC-1 α –NRF2 ekseninin aktive olması ve mitokondriyal biyogenezin desteklenmesi yer alır (Koç & ark., 2023).

Cash et al. (2014) ise fiziksel aktivitenin DNA hasarını her zaman azaltmadığını, ancak DNA onarım kapasitesini anlamlı şekilde artırdığını bildirmiştir (Cash vd., 2014:770). Uzun dönemli (16 hafta) ve düzenli (haftada üç gün) düşük-orta yoğunluklu egzersiz, hücrelerde antioksidan kapasitenin artması, RONS

üretiminin daha iyi kontrol edilmesi ve DNA onarım mekanizmalarının güçlenmesi ile sonuçlanır (Xie vd., 2025:12518).

Özellikle yüksek yoğunluklu aktivite seviyeleri ile DNA onarımının ilk saatleri arasında pozitif ilişki bulunmuştur. Bu durum, düzenli egzersizin PARP-1 ve OGG1 gibi DNA onarım enzimlerinin aktivasyonunu artırarak DNA bütünlüğünü desteklediğini göstermektedir (Moreno-Villanueva vd., 2019:2999; Thomas vd., 2019:9941).

Egzersizin DNA hasarı üzerindeki etkisi tek bir mekanizma ile açıklanamaz; çünkü egzersiz türü (aerobik, direnç, HIIT), süresi, şiddeti ve kişinin fizyolojik durumu belirleyici faktörlerdir. Egzersiz yoğunluğu oksidatif DNA hasarının en güçlü belirleyicisidir. Ancak uzun mesafe (>42 km) koşuları gibi dayanıklılık aktivitelerinde DNA hasarının görülmeyişi metabolik adaptasyon ile ilişkili olabilir (Tryfidou vd., 2019:129).

Egzersiz DNA hasarını yalnızca doğrudan oksidatif stres yoluyla değil, aynı zamanda epigenetik mekanizmalar yoluyla da modüle eder (Santovito vd., 2023:1110). RONS, DNA metilasyonu ve histon modifikasyonlarını değiştirerek antioksidan genlerin (örn. *NRF2*, *SOD2*) aktifleşmesini sağlayabilir. Egzersizle uyarılan mikroRNA'lar (miR-21, miR-133a vb.), DNA onarım yanıtında rol oynayan proteinlerin translasyonunu doğrudan etkileyebilir (Climent vd., 2020:4370). Bu nedenle egzersiz, oksidatif stres ve epigenetik arasında bütünleşik bir sistem oluşturarak DNA hasarı dinamiklerini belirlemektedir.

Egzersizin DNA hasarı üzerindeki etkileri tüm dokularda aynı şekilde görülmez; farklı organ ve dokuların metabolik faaliyetleri ve mitokondriyal yoğunlukları bu yanıtları belirler.

Vilela et al. (2020), düzenli fiziksel aktivitenin beyin dokusunda oksidan üretimini azalttığını, antioksidan kapasiteyi artırarak nükleer DNA hasarını sınırladığını göstermiştir (Vilela vd.,

2020:1981). Bu bulgular, egzersizin nöroprotektif etkileri ile DNA düzeyindeki stabilizasyon arasında bağlantı olduğunu düşündürmektedir.

Lenfosit ve nötrofil gibi kan hücreleri egzersiz sırasında yüksek metabolik aktivite gösterdiğinden, DNA hasarı bu hücrelerde daha net görülebilir. Ancak düzenli egzersiz, bu hücrelerde antioksidan savunmayı belirgin şekilde güçlendirmektedir (Siu vd., 2011:889). Ayrıca egzersiz, telomerler üzerinde de etkilidir

mtDNA, nükleer DNA'ya kıyasla daha zayıf onarım kapasitesine ve daha yüksek oksidatif strese maruz kalma eğilimine sahiptir. Williamson ve Davison (2020), egzersiz sırasında oluşan mtDNA hasarının özellikle yoğun aktivite dönemlerinde arttığını, ancak mitokondriyal biyogenezin artışı ile uzun vadede bu hasarın dengelendiğini bildirmiştir (Williamson & Davison, 2020:1142).

Cinsiyet ve Yaş Faktörleri

Egzersiz fizyolojisi ve genetiği çalışmalarında bireysel farklılıkların önemli bir bölümü cinsiyet ve yaş faktörlerinden kaynaklanır (KOÇ, 2023:10; Pataky vd., 2023:1996).

Benzer şekilde, yaşlanma süreciyle birlikte epigenetik stabilite azalır, mitokondriyal verim düşer ve egzersize verilen adaptif yanıt zayıflar (Guarasci vd., 2018:47; Musci vd., 2025:851)

Kadın ve erkekler arasında hormonal denge, kas kompozisyonu, kardiyovasküler kapasite ve epigenetik yanıtlar açısından belirgin farklılıklar vardır (Akpınar Kocakulak vd., 2021:482; Landen vd., 2019:523; Voisin vd., 2024:e13859). Östrojen ve testosteron gibi cinsiyet hormonları, kas dokusunun metabolik özelliklerini, mitokondriyal işlevselliğini ve egzersiz sonrası adaptasyon süreçlerini doğrudan şekillendirir (Pataky vd., 2023:1996; Şanlısoy vd., 2011:153).

Östrojenin antioksidan ve mitokondri koruyucu özellikleri, dayanıklılık egzersizi sırasında kadınlarda daha güçlü bir metabolik direnç oluşmasını sağlar. Östrojen reseptörü alfa (ER α) üzerinden PGC-1 α ve NRF1 yollarının aktive olması, kadınlarda mitokondriyal biyogenez yanıtını belirgin biçimde artırır (Galmés-Pascual vd., 2017:297). Bu nedenledir ki dayanıklılık antrenmanı sonrası mitokondriyal adaptasyon kadınlarda daha güçlüdür (Landen vd., 2019:523). Buna karşılık testosteron, kas protein sentezini destekleyen mTOR sinyal yolunu uyararak erkeklerde hipertrofiyi kolaylaştırır (Irawati vd., 2024:124); ancak androjen benzeri steroid kullanımı da oksidatif stres toleransını azaltabildiğinden DNA hasarı açısından daha yüksek risk oluşturabilir (Abbasnezhad vd., 2021:685)

Kas lifi kompozisyonu da cinsiyete özgüdür. Yeni ve kapsamlı bir meta analize göre kadınlarda Tip I (oksidatif) liflerin, erkeklerde Tip II (glikolitik) liflerin daha yüksek oranda bulunur (James vd., 2025:e70616). Bu durum enerji substratı kullanımını ve antrenman adaptasyonunu etkiler. Bu yapısal farklılık, kadınlarda yağ oksidasyonunun, erkeklerde karbonhidrat kullanımının daha baskın olmasına neden olur.

Genetik ve epigenetik düzenleme açısından da cinsiyet, belirleyici bir etkidir. ACE I/D polimorfizminin yalnızca erkeklerde dayanıklılık performansını daha güçlü etkilediği; ACTN3 R577X varyantının ise erkeklerde güç performansıyla, kadınlarda ise daha çok dayanıklılıkla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Ahmetov & Rogozkin, 2009:43; Şanlısoy vd., 2011:153). Östrojenin epigenetik mimari üzerindeki etkisi de önemlidir. Barrès ve arkadaşları (2012), östrojen reseptörü aktivasyonunun H3K27 asetilasyonunu artırdığını ve buna bağlı olarak PGC-1 α ile TFAM ekspresyonunun yükseldiğini göstermiştir. Ayrıca Denham et al. (2015), kadınlarda egzersiz sonrası inflamasyonla ilişkili miRNA'ların (miR-221, miR-223) daha uzun süre yüksek kaldığını, bunun egzersiz sonrası

iyileşme ve inflamasyon kontrol süreçlerini cinsiyete özgü hale getirdiğini bildirmiştir.

Yaşlanma ile hem hormonal denge hem de epigenetik kontrol mekanizmaları zayıflar. DNA metilasyonundaki artış, histon asetilasyonundaki azalma ve mitokondriyal biyogenezdaki düşüş, kas hücrelerinin rejeneratif kapasitesini önemli ölçüde sınırlar (Landen et al., 2019). Ancak düzenli fiziksel aktivite bu süreci tersine çevirebilir (Yumi Noronha vd., 2022:895489).

Fiziksel aktivite ve egzersiz insan epigenomunda bilişsel ve psikolojik sağlığı geliştirme, kas sağlığını iyileştirme ve ileri yaşlarda yaşam kalitesinin artmasıyla daha iyi yaşlanmaya yol açma potansiyeline sahip değişiklikler meydana getirir (Rea, 2017:679). Bu gibi yaşla meydana gelen değişikliklerde egzersizin telomeraz aktivitesi (TERT) ve telomer kısalmasının yavaşlamasındaki kritik rolü de yadsınamaz (Dimauro vd., 2017:4137; Plaza-Diaz vd., 2022:126).

Cinsiyet ve yaş etkileşimi klinik açıdan da önemlidir. Menopoz sonrası östrojen düzeylerinin keskin şekilde düşmesi, kadınlarda oksidatif stres yükünü artırırken; yaşlı erkeklerde testosteron azalması kas kaybını hızlandırır (Cobley vd., 2015:249; Khanal vd., 2020:1459; KOÇ, 2023:10; Musci vd., 2025:851). Bu nedenle fizyolojik ve genetik farklılıkların yaşla ilişkisi (Moreira vd., 2018:57) dikkate alınarak ileri yaş bireylerde egzersiz şiddeti ve modalitesi hassasiyetle kişiselleştirilmelidir.

Yaşlanma ile epigenetik sessizleşme artsa da düzenli egzersiz hem hormonal hem de moleküler mekanizmalar aracılığıyla bu süreci yavaşlatmakta ve hücrel yaşlanmayı geciktirmektedir. Bu nedenle egzersiz, yaşam boyu sürdürülen bir “moleküler dengeleyici” olarak değerlendirilebilir (Zheng vd., 2025:12).

Kişiselleştirilmiş Egzersiz Yaklaşımları ve Gelecek Perspektifleri

Bu bölüm boyunca egzersizin moleküler yollar aracılığıyla insan fizyolojisini ne kadar etkilediği üzerinde duruldu. Ancak bu uyarana verilen yanıtın bireyden bireye dramatik biçimde değiştiği de unutulmamalıdır. Aynı antrenman programı bir kişide belirgin performans artışı sağlarken, başka birinde son derece sınırlı sonuç doğurabilir (Pickering & Kiely, 2017:191). Pickering ve Kiely (2017), antrenman adaptasyonunun güçlü bir genetik arka plana sahip olduğunu vurgulayarak kişiselleştirilmiş egzersiz kavramında genetik biliminin önemine dikkat çekmiştir. Bu çerçevede genetik, epigenetik ve YZ destekli yaklaşımlar, klasik “herkese aynı program” anlayışının yerini giderek biyolojik olarak özelleştirilmiş egzersiz reçetelerine bırakacağını düşündürmektedir.

Egzersiz yanıtındaki bireysel farklılıkların önemli bir bölümü genetik polimorfizmlerle ilişkilidir. *FTO*, *ACE*, *PPARG*, *MC4R*, *CREB1* ve *OPRM1* gibi genlerdeki varyantların egzersiz sırasında duygu durumu, termoregülasyonu, laktat üretimini ve algılanan efor düzeyini etkilediği (Karoly vd., 2012:540563) ve antrenman programlarının metabolik etkinliğini belirgin biçimde değiştirdiği (Leońska-Duniec vd., 2018:134) gösterilmiştir.

Bu ilişkilerin pratik karşılığı, genotipe dayalı antrenman çalışmalarında ortaya konmuştur. Masidda ve ark., (2016) da *ACTN3*, *ACE* ve *BDKRB2* genlerini içeren toplam genotip skorunun dikey sıçrama performansındaki varyansın yaklaşık %18–24’ünü açıkladığını göstermesi dikkat çeken ilk bulgulardan biridir (Masidda vd., 2014:554). Sonrasında performansla ilişkili 15 polimorfizmi içeren bir panel kullanarak sporcuların genetik profillerine uygun veya aykırı programlara yönlendirildiği; genetik profiline uygun antrenman yapanlarda hem güç hem dayanıklılık kazanımlarının anlamlı derecede yüksek olduğunun gösterilmesi (Jones vd., 2016:117) “yanıt vermeyen sporcu” kavramının çoğu durumda yanlış antrenman tipi ya da dozu ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Genetik zemin üzerine eklenen epigenetik mekanizmalar, çevresel faktörlerin (egzersiz, beslenme, stres) gen ifadesini nasıl yeniden programladığını açıklar. Menopoz sonrası prediyabetli kadınlarda 14 haftalık bir egzersiz programı, yüzden fazla gende epigenetik değişikliklere yol açmıştır (Yumi Noronha vd., 2022:895489) Özellikle yaşlı bireylerde mitokondriyal ekseninin egzersiz ve destekleyici moleküllerle (örneğin resveratrol, NAD⁺ takviyeleri) yeniden aktive edilmesi epigenetik yaşlanmayı yavaşlatabilir (Muhammad & Allam, 2018:681; Zhang & Kiarasi, 2024:2347).

Bu veriler bir arada değerlendirildiğinde, genetik ve epigenetik profillemeye, yalnızca elit spor performansını değil, kişiselleştirilmiş egzersizle kanser, obezite, tip 2 diyabet, osteoartrit ve nörodejenerasyon gibi kronik ve/veya yaşlanmayla ortaya çıkabilecek hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde önemli bir araç olabilir (Espin-Garcia vd., 2022:930421; Ferioli vd., 2019:14852).

Yapay Zekâ, Dijital Teknolojiler ve Teknolojik Yaklaşımlar

Genetik ve epigenetik veriler tek başına oldukça karmaşık ve yüksek boyutludur; bu nedenle son yıllarda yapay zekâ (YZ) ve makine öğrenmesi, kişiselleştirilmiş egzersiz alanında merkezî bir rol üstlenmiştir. Yeni yapılan bir araştırmanın sonuçları göstermektedir ki makine öğrenmesi kullanılarak 480 sporcudan elde edilen fizyolojik ve psikolojik verilerin işlenmesiyle performans çıktıları %90 doğrulukla tahmin edilebilmektedir (Jianjun vd., 2025:16365). Bu çalışma, genetik belirteçlerin YZ ile entegrasyonunun bireylerin gerçek performans kapasitesini önceden öngörmede ne kadar güçlü olabileceğini göstermektedir. Böyle bir analizin aydınlatan genetik ve epigenetik yollarla genişletilmesi kaçınılmazdır. Alen Juginović ve arkadaşları (2025), giyilebilir biyosensörler, metabolik veriler, genetik testler ve makine öğrenmesinin entegrasyonu ile bir bireyin biyolojik özelliklerini

yansıtan sistemleri tartışmaktadır (Juginović vd., 2025:1023). Bu tür sistemler:

- Anlık oksijen tüketimi, laktat eşiği ve kalp atım dinamiklerini izleyebilmekte,
- Kolajen genleri gibi yapısal proteinlere ait varyantlara dayanarak sakatlık riskini öngörebilmekte,
- farmakogenomik verileri kullanarak ilaçlara verilecek yanıtı kişiselleştirebilmektedir.

Aynı zamanda kişiye özel nutrigenomik temelli diyet müdahalesi hem sağlık göstergelerinde hem de egzersiz performansı ve antrenman sonrası iyileşme sürelerinde belirgin iyileşmeler sağlayabilir (Kamran vd., 2025:506). Hatta uzun vadede genom, epigenom, transkriptom, mikrobiyom ve metabolom verilerinin birlikte analiz edilmesi, her birey için “moleküler egzersiz profili” oluşturmayı mümkün kılabilir.

Klinik Yansımalar, Sınırlılıklar ve Geleceğe Bakış

Kişiselleştirilmiş egzersiz yaklaşımları bugün artık yalnızca elit sporcu performansını artırmaya yönelik bir araç olmaktan çıkmış; tip 2 diyabet, obezite, osteoartrit, kardiyovasküler hastalıklar ve depresyon gibi kronik durumların yönetiminde de giderek daha fazla gündeme gelmeye başlamıştır (Espin-Garcia vd., 2022:930421; Leońska-Duniec vd., 2018:134; Plaza-Diaz vd., 2022:126; Tan vd., 2024:1522673). Genetik ve epigenetik profillemeye, bu hastalıklarda egzersiz tedavisinin tipi, sıklığı ve şiddetinin bireye göre ayarlanmasına imkân tanıyan ek bir bilgi katmanı sunmaktadır.

Naureen ve arkadaşları (2020), elit spor performansının çoklu genler, epigenetik düzenlemeler, hormonal durum, beslenme, uyku, psikolojik faktörler ve antrenman geçmişinin karmaşık bileşimiyle belirlenmesinden dolayı yalnızca genetik test

sonuçlarına dayanarak güçlü öngörülerde bulunmanın riskli olacağına dikkat çekmiştir. Ticari testlerin yanlış beklenti yaratma ve sporcu üzerinde baskı oluşturma potansiyeli de söz konusudur ve genetik testlerde yeni gelişmeler ve iyileştirmeler mümkün olsa bile, konunun etik boyutu tartışmaya açıktır (Naureen vd., 2020:e2020012; Pickering & Kiely, 2017:191; Spitsyna & Borry, 2024:404).

Geleceğin kişiselleştirilmiş egzersiz modelleri yalnızca genetik ve epigenetik veriyi değil, proteomik, metabolomik, mikrobiyota profili, davranışsal veriler ve çevresel faktörleri de içeren çok katmanlı yapılar olmalıdır. Bu vizyona göre çok da uzak olmayan bir gelecekte makine öğrenmesi ve YZ teknolojilerinin kullanımıyla her birey için biyolojik verilerden oluşturulmuş egzersiz ve beslenme senaryoları denenebilecek, böylece en güvenli ve en etkili program klinik uygulamaya alınabilecektir. Ancak metodolojik sınırlılıklar, veri heterojenliği ve etik sorunlar nedeniyle bu alanın dikkatli ve kanıta dayalı biçimde ilerlemesi gerekmektedir. Yine de mevcut kanıtlar, yakın gelecekte egzersiz tıbbının genetik + epigenetik + çoklu-omik + YZ entegrasyonuna dayalı, gerçekten bireye özgü bir disipline dönüşeceğine işaret etmektedir.

Sonuç ve Genel Değerlendirme

Bu bölümde ele alınan bulgular, egzersizin yalnızca mekanik bir uyarı değil, gen ifadesini epigenetik düzeyde düzenleyen güçlü bir biyolojik sinyal olduğunu ortaya koymaktadır. DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve mikroRNA'lar aracılığıyla gelişen bu yeniden programlama; kas, kardiyovasküler sistem, metabolik denge ve hücrel yaşlanma üzerinde kalıcı etkiler oluşturur. Cinsiyet ve yaşın bu süreçleri belirgin biçimde şekillendirmesi, egzersiz yanıtının biyolojik olarak ne kadar bireye özgü olduğunu açıkça göstermektedir. Ayrıca egzersizin transgenerasyonel etkileri, fiziksel aktiviteyi yalnızca bireysel değil,

toplumsal düzeyde de bir “genetik sağlık yatırımı” haline getirmektedir.

Gelecekte kişiselleştirilmiş egzersiz tıbbının temelini, yapay zekâ destekli biyoenformatik analizler ve multi-omik veri entegrasyonu oluşturacaktır. Genom, epigenom ve metabolom verilerinin birlikte değerlendirilmesiyle geliştirilecek moleküler egzersiz profilleri sayesinde egzersiz, sezgisel bir uygulama olmaktan çıkıp bilimsel olarak hesaplanmış, hedefe yönelik bir biyomedikal müdahale niteliği kazanacaktır.

Kaynakça

- Abbasnezhad, A., Mahdavi, M., Kianmehr, M., Ghorbani, M., Motaghy, M. R., Sohrabi, M., & Hajavi, J. (2021). The effects of anabolic-androgenic steroids on DNA damage in bodybuilders' blood lymphocytes. *Biomarkers*, 26(8), 685-690.
- Ahmad Yusof, H., & Che Muhamed, A. M. (2021). Angiotensin-converting enzyme (ACE) insertion/deletion gene polymorphism across ethnicity: a narrative review of performance gene. *Sport Sciences for Health* 2021 17:1, 17(1), 57-77.
- Ahmetov, I. I., & Rogozkin, V. A. (2009). Genes, athlete status and training -- An overview. *Medicine and Sport Science*, 54, 43-71.
- Akpınar Kocakulak, N., Taheri, S., Funda ŞENER, E., Aycan, K., & Özkul, Y. (2021). The Effect of Different Programs of Exercise on The Expression of Genes Associated with Endurance and Energy Metabolism. *Journal of Sport Sciences Research*, 6(2), 482-490.
- Barrès, R., Yan, J., Egan, B., Treebak, J. T., Rasmussen, M., Fritz, T., Caidahl, K., Krook, A., O’Gorman, D. J., & Zierath, J. R. (2012). Acute exercise remodels promoter methylation in human skeletal muscle. *Cell Metabolism*, 15(3), 405-411.
- Barrón-Cabrera, E., Ramos-Lopez, O., González-Becerra, K., Riezu-Boj, J. I., Milagro, F. I., Martínez-López, E., & Martínez, J. A. (2019). Epigenetic Modifications as Outcomes of Exercise Interventions Related to Specific Metabolic Alterations: A Systematic Review. *Lifestyle Genomics*, 12(1-6), 25-44.
- Bellezza, I., Giambanco, I., Minelli, A., & Donato, R. (2018). Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress. İçinde *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research* (C. 1865, Sayı 5, ss. 721-733). Elsevier B.V.
- Bıçakçı, B., Ciężczyk, P., & Humińska-Lisowska, K. (2024). Genetic Determinants of Endurance: A Narrative Review on Elite Athlete

- Bittel, A. J., & Chen, Y. W. (2024). DNA Methylation in the Adaptive Response to Exercise. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 54(6), 1419-1458.
- Boidin, M., Dawson, E. A., Thijssen, D. H. J., & Erskine, R. M. (2023). VEGFA rs2010963 GG genotype is associated with superior adaptations to resistance versus endurance training in the same group of healthy, young men. *Molecular Genetics and Genomics*, 298(1), 119-129.
- Bouchard, C. (2015). Exercise genomics—a paradigm shift is needed: a commentary. *British Journal of Sports Medicine*, 49(23), 1492-1496.
- Bouchard, C., An, P., Rice, T., Skinner, J. S., Wilmore, J. H., Gagnon, J., Pérusse, L., Leon, A. S., & Rao, D. C. (1999). Familial aggregation of $\dot{V}O_{2\max}$ response to exercise training: Results from the HERITAGE family study. *Journal of Applied Physiology*, 87(3), 1003-1008.
- Broos, S., Malisoux, L., Theisen, D., Van Thienen, R., Ramaekers, M., Jamart, C., Deldicque, L., Thomis, M. A., & Francaux, M. (2016). Evidence for ACTN3 as a Speed Gene in Isolated Human Muscle Fibers. *PLoS ONE*, 11(3), e0150594.
- Cantó, C., Jiang, L. Q., Deshmukh, A. S., Matakı, C., Coste, A., Lagouge, M., Zierath, J. R., & Auwerx, J. (2010). Interdependence of AMPK and SIRT1 for metabolic adaptation to fasting and exercise in skeletal muscle. *Cell Metabolism*, 11(3), 213.
- Cash, S. W., Beresford, S. A. A., Vaughan, T. L., Heagerty, P. J., Bernstein, L., White, E., & Neuhouser, M. L. (2014). Recent Physical Activity in Relation to DNA Damage and Repair Using the Comet Assay. *Journal of Physical Activity and Health*, 11(4), 770-776.

- Civan, A., Özdemir, İ., Gökhan GENCER, Y., & Durmaz, M. (2018). Egzersiz ve Stres Hormonları. *Turkish Journal of Sports Science*, 2(1), 1-14.
- Climent, M., Viggiani, G., Chen, Y. W., Coulis, G., & Castaldi, A. (2020). MicroRNA and ROS Crosstalk in Cardiac and Pulmonary Diseases. *International Journal of Molecular Sciences* 2020, Vol. 21, Page 4370, 21(12), 4370.
- Cobley, J. N., Moulton, P. R., Burniston, J. G., Morton, J. P., & Close, G. L. (2015). Exercise improves mitochondrial and redox-regulated stress responses in the elderly: better late than never! *Biogerontology*, 16(2), 249-264.
- Costa-Júnior, J. M., Ferreira, S. M., Kurauti, M. A., Bernstein, D. L., Ruano, E. G., Kameswaran, V., Schug, J., Freitas-Dias, R., Zoppi, C. C., Boschero, A. C., de Oliveira, C. A. M., Santos, G. J., Carneiro, E. M., & Kaestner, K. H. (2022). Paternal exercise improves the metabolic health of offspring via epigenetic modulation of the germline. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 1.
- Cupeiro, R., Benito, P. J., Maffulli, N., Calderón, F. J., & González-Lamuño, D. (2010). MCT1 genetic polymorphism influence in high intensity circuit training: A pilot study. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 13(5), 526-530.
- Denham, J. (2018). Exercise and epigenetic inheritance of disease risk. *Acta Physiologica (Oxford, England)*, 222(1).
- Denham, J., Bliss, E. S., Bryan, T. M., O'brien, B. J., & Mills, D. (2024). Exercise to combat cancer: focusing on the ends. *Physiological Genomics*, 56(12), 869-875.
- Denham, J., Marques, F. Z., O'Brien, B. J., & Charchar, F. J. (2014). Exercise: putting action into our epigenome. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 44(2), 189-209.
- Dimauro, I., Sgura, A., Pittaluga, M., Magi, F., Fantini, C., Mancinelli, R., Sgadari, A., Fulle, S., & Caporossi, D. (2017). Regular exercise

- participation improves genomic stability in diabetic patients: an exploratory study to analyse telomere length and DNA damage. *Scientific Reports* 2017 7:1, 7(1), 4137-.
- Domańska-Senderowska, D., Laguette, M. J. N., Jegier, A., Cieszczyk, P., September, A. V., & Brzezińska-Lasota, E. (2019). MicroRNA Profile and Adaptive Response to Exercise Training: A Review. *International Journal of Sports Medicine*, 40(4), 227-235.
- Dong, Y., Ren, C., Tang, H., Yan, J., Zhang, Y., Fan, L., Kou, G., & Cui, Z. (2024). Icaritin promotes skeletal muscle mitochondrial biogenesis by the AMPK-PPAR δ -PGC-1 α signaling pathway: A potential mechanism for beneficial muscle function homeostasis. *Food Bioscience*, 62, 105260.
- El Ouali, E. M., Barthelemy, B., Del Coso, J., Hackney, A. C., Laher, I., Govindasamy, K., Mesfioui, A., Granacher, U., & Zouhal, H. (2024). A Systematic Review and Meta-analysis of the Association Between ACTN3 R577X Genotypes and Performance in Endurance Versus Power Athletes and Non-athletes. *Sports Medicine - Open* 2024 10:1, 10(1), 1-23.
- Elsner, V. R., Basso, C., Bertoldi, K., de Meireles, L. C. F., Cechinel, L. R., & Siqueira, I. R. (2017). Differential effect of treadmill exercise on histone deacetylase activity in rat striatum at different stages of development. *The Journal of Physiological Sciences*, 67(3), 387-394.
- Erkan, E., Eken, B. F., Kazancı, D., Polat, T., Yılmaz, Ö. Ö., Doğan, C. S., Aslan, B. T., Akkoç, O., & Ulucan, K. (2022). Türk Uzun Ve Kısa Mesafe Koşucularında Anjiyotensinojen Geni (Rs699) Polimorfizminin Atletik Performans Üzerine Etkisi. *Eurasian Research in Sport Science*, 7(1), 1-8.
- Espin-Garcia, O., Baghel, M., Brar, N., Whittaker, J. L., & Ali, S. A. (2022). Can genetics guide exercise prescriptions in osteoarthritis? *Frontiers in Rehabilitation Sciences*, 3, 930421.
- Eynon, N., Hanson, E. D., Lucia, A., Houweling, P. J., Garton, F., North, K. N., & Bishop, D. J. (2013). Genes for Elite Power and Sprint

- Performance: ACTN3 Leads the Way. *Sports Medicine* 2013 43:9, 43(9), 803-817.
- Fabre, O., Ingerslev, L. R., Garde, C., Donkin, I., Simar, D., & Barrès, R. (2018). Exercise training alters the genomic response to acute exercise in human adipose tissue. *Epigenomics*, 10(8), 1033-1050.
- Fan, Z., & Xu, M. (2020). Exercise and Organ Cross Talk. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1228, 63-76.
- Feroli, M., Zauli, G., Maiorano, P., Milani, D., Mirandola, P., & Neri, L. M. (2019). Role of physical exercise in the regulation of epigenetic mechanisms in inflammation, cancer, neurodegenerative diseases, and aging process. *Journal of Cellular Physiology*, 234(9), 14852-14864.
- Fernandes, J., Vieira, A. S., Kramer-Soares, J. C., Da Silva, E. A., Lee, K. S., Lopes-Cendes, I., & Arida, R. M. (2018). Hippocampal microRNA-mRNA regulatory network is affected by physical exercise. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1862(8), 1711-1720.
- Fogarty, M. C., Hughes, C. M., Burke, G., Brown, J. C., Trinick, T. R., Duly, E., Bailey, D. M., & Davison, G. W. (2011). Exercise-induced lipid peroxidation: Implications for deoxyribonucleic acid damage and systemic free radical generation. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 52(1), 35-42.
- Freitas-Dias, R., Lima, T. I., Costa-Junior, J. M., Gonçalves, L. M., Araujo, H. N., Paula, F. M. M., Santos, G. J., Branco, R. C. S., Ou, K., Kaestner, K. H., Silveira, L. R., Oliveira, C. A. M., Boscherio, A. C., Zoppi, C. C., & Carneiro, E. M. (2022). Offspring from trained male mice inherit improved muscle mitochondrial function through PPAR co-repressor modulation. *Life Sciences*, 291, 120239.
- Galmés-Pascual, B. M., Nadal-Casellas, A., Bauza-Thorbrügge, M., Sbert-Roig, M., García-Palmer, F. J., Proenza, A. M., Gianotti, M., Lladó, I., Galmés-Pascual, B. M., Nadal-Casellas, A., Bauza-Thorbrügge, M., Sbert-Roig, M., García-Palmer, F. J., Proenza, A. M., Gianotti,

- M., & Lladó, I. (2017). 17 β -estradiol improves hepatic mitochondrial biogenesis and function through PGC1B. *Journal of Endocrinology*, 232(2), 297-308.
- García-Giménez, J. L., Cánovas-Cervera, I., & Pallardó, F. V. (2024). Oxidative stress and metabolism meet epigenetic modulation in physical exercise. *Free Radical Biology & Medicine*, 213, 123-137.
- Giacomello, E., Nicoletti, C., Canato, M., & Toniolo, L. (2025). Exercise Mimetics in Aging: Suggestions from a Systematic Review. *Nutrients*, 17(6), 969.
- Gomez-Pinilla, F., & Thapak, P. (2024). Exercise Epigenetics is fueled by cell Bioenergetics: Supporting role on Brain Plasticity and Cognition. *Free Radical Biology & Medicine*, 220, 43-55.
- Gomez-Pinilla, F., Zhuang, Y., Feng, J., Ying, Z., & Fan, G. (2011). Exercise impacts brain-derived neurotrophic factor plasticity by engaging mechanisms of epigenetic regulation. *European Journal of Neuroscience*, 33(3), 383-390.
- Guarasci, F., D'Aquila, P., Mandalà, M., Garasto, S., Lattanzio, F., Corsonello, A., Passarino, G., & Bellizzi, D. (2018). Aging and nutrition induce tissue-specific changes on global DNA methylation status in rats. *Içinde Mechanisms of Ageing and Development* (C. 174, ss. 47-54). Elsevier Ireland Ltd.
- Hall, E. C. R., Almeida, S. S., Heffernan, S. M., Lockey, S. J., Herbert, A. J., Callus, P., Day, S. H., Pedlar, C. R., Kipps, C., Collins, M., Pitsiladis, Y. P., Bennett, M. A., Kilduff, L. P., Stebbings, G. K., Erskine, R. M., & Williams, A. G. (2021). Genetic Polymorphisms Related to VO₂max Adaptation Are Associated With Elite Rugby Union Status and Competitive Marathon Performance. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 16(12), 1858-1864.
- He, F., Li, J., Liu, Z., Chuang, C. C., Yang, W., & Zuo, L. (2016). Redox Mechanism of Reactive Oxygen Species in Exercise. *Frontiers in Physiology*, 7(NOV), 486.

- Hennis, P. J., O'doherty, A. F., Denny, •, Levett, Z. H., Michael, •, Grocott, P. W., Montgomery, H. M., Hennis, P. J., Levett, D. Z. H., Grocott, Á. M. P. W., Montgomery, Á. H. M., & O'doherty, A. F. (2015). Genetic Factors Associated with Exercise Performance in Atmospheric Hypoxia. *Sports Medicine* 2015 45:5, 45(5), 745-761.
- Hood, D. A., Memme, J. M., Oliveira, A. N., & Triolo, M. (2019). Maintenance of Skeletal Muscle Mitochondria in Health, Exercise, and Aging. *Annual Review of Physiology*, 81(Volume 81, 2019), 19-41.
- Huang, Z., Chen, J., Chen, L., Zhang, M., Zhang, W., Sun, J., & Li, D. (2024). The enhancement of explosive power contributes to the development of anaerobic capacity: A comparison of autoregulatory progressive resistance exercise and velocity-based resistance training. *Journal of Exercise Science & Fitness*, 22(2), 159-167.
- Ii, A., Na, K., Dv, P., Va, N., Eb, A., Yr, B., Es, E., Aa, G., Ev, G., Es, K., Ak, L., Lj, M., Ea, O., Av, P., Lm, S., Dg, A., Ol, V., & Vm, G. (2015). Genome-wide association study identifies three novel genetic markers associated with elite endurance performance. *Biology of Sport*, 32(1), 3.
- Irawati, N. A. V., Sylviana, N., & Lubis, L. (2024). Role Of Exercise Intensity in Skeletal Muscle Hypertrophy. *Jurnal Biomedika dan Kesehatan*, 7(1), 124-132.
- Jacques, M., Hiam, D., Craig, J., Barrès, R., Eynon, N., & Voisin, S. (2019). Epigenetic changes in healthy human skeletal muscle following exercise– a systematic review. *Epigenetics*, 14(7), 633-648.
- James, J. J., Mellow, M. L., Bueckers, E. P., Gutsch, S. B., Wrucke, D. J., Pearson, A. G., Smith, A. E., & Hunter, S. K. (2025). Sex differences in human skeletal muscle fiber types and the influence of age, physical activity, and muscle group: A systematic review and meta-analysis. *Physiological Reports*, 13(21), e70616.
- Jianjun, Q., Isleem, H. F., Almoghayer, W. J. K., & Khishe, M. (2025). Predictive athlete performance modeling with machine learning and

- biometric data integration. *Scientific Reports* 2025 15:1, 15(1), 16365-.
- Jones, N., Kiely, J., Suraci, B., Collins, D. J., Lorenzo, D. D., Pickering, C., & Grimaldi, K. A. (2016). A genetic-based algorithm for personalized resistance training. *Biology of Sport*, 33(2), 117-126.
- Juginović, A., Kekić, A., Aranza, I., Biloš, V., & Armanda, M. (2025). Next-Generation Approaches in Sports Medicine: The Role of Genetics, Omics, and Digital Health in Optimizing Athlete Performance and Longevity—A Narrative Review. *Life* 2025, Vol. 15, Page 1023, 15(7), 1023.
- Kamran, H., Butt, Z. I., Khan, P. A., Ashraf, A., Bashir, S., Javaid, A., & Khan, M. (2025). ROLE OF PHYSICAL FITNESS AND CARDIOVASCULAR TRAINING IN PREVENTING CARDIAC ARREST AMONG ATHLETES. *Annual Methodological Archive Research Review*, 3(9), 506-513.
- Karip, B., & Balcioglu, H. A. (2021). Egzersiz Fizyolojisi Bağlamında Musküler Plastisite. *Gaziantep Üniversitesi Spor Bilimleri Dergisi*, 6(3), 266-278.
- Karoly, H. C., Stevens, C. J., Magnan, R. E., Harlaar, N., Hutchison, K. E., & Bryan, A. D. (2012). Genetic Influences on Physiological and Subjective Responses to an Aerobic Exercise Session among Sedentary Adults. *Journal of Cancer Epidemiology*, 2012(1), 540563.
- Khanal, P., He, L., Herbert, A. J., Stebbings, G. K., Onambele-Pearson, G. L., Degens, H., Morse, C. I., Thomis, M., & Williams, A. G. (2020). The Association of Multiple Gene Variants with Ageing Skeletal Muscle Phenotypes in Elderly Women. *Genes* 2020, Vol. 11, Page 1459, 11(12), 1459.
- Kılıç-Toprak, E., Ünver, F., Kılıç-Erkek, Ö., Korkmaz, H., Oymak, B., Özdemir, Y., Oskay, A., Küçükata, V., Bor-Küçükata Pamukkale Tıp Dergisi, M., Üniversitesi, P., Fakültesi, T., Ana Bilim Dalı, F., Pamukkale Üniversitesi, D., Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksekokulu,

- F., Gör Pamukkale Üniversitesi, A., Gör Gedik Üniversitesi, Ö., Bilimleri Fakültesi, S., Gör Pamukkale Üniversitesi, A., Pamukkale Üniversitesi, A., ... Bor-Küçükata, M. (2019). Aktif erkek bireylerde tek seans uygulanan izokinetik egzersizin DNA hasarı üzerine etkilerinin incelenmesi. *Pamukkale Tıp Dergisi*, 12(1), 33-40.
- Kilpeläinen, T. O., Qi, L., Brage, S., Sharp, S. J., Sonestedt, E., Demerath, E., Ahmad, T., Mora, S., Kaakinen, M., Sandholt, C. H., Holzapfel, C., Autenrieth, C. S., Hyppönen, E., Cauchi, S., He, M., Kutalik, Z., Kumari, M., Stančáková, A., Meidtner, K., ... Loos, R. J. F. (2011). Physical Activity Attenuates the Influence of FTO Variants on Obesity Risk: A Meta-Analysis of 218,166 Adults and 19,268 Children. *PLOS Medicine*, 8(11), e1001116.
- Kim, D. S., Wheeler, M. T., & Ashley, E. A. (2021). The genetics of human performance. *Nature Reviews Genetics* 2021 23:1, 23(1), 40-54.
- KOÇ, G. (2023). Yaşlanma Sürecinde Egzersiz ve Fiziksel Aktivitenin Biyokimyasal ve Hücresel Etkileri: Sistemik Derleme. *Türkiye Klinikleri Journal of Gerontology*, 2(1), 10-16.
- Kruszewski, M., & Aksenov, M. O. (2022). Association of Myostatin Gene Polymorphisms with Strength and Muscle Mass in Athletes: A Systematic Review and Meta-Analysis of the MSTN rs1805086 Mutation. *Genes*, 13(11), 2055.
- Landen, S., Voisin, S., Craig, J. M., McGee, S. L., Lamon, S., & Eynon, N. (2019). Genetic and epigenetic sex-specific adaptations to endurance exercise. *Epigenetics*, 14(6), 523-535.
- Lee, S. J. (2007). Sprinting without myostatin: a genetic determinant of athletic prowess. *Trends in Genetics*, 23(10), 475-477.
- Leońska-Duniec, A., Jastrzębski, Z., Jażdżewska, A., Moska, W., Lulińska-Kuklik, E., Sawczuk, M., Gubaydullina, S. I., Shakirova, A. T., Ciężczyk, P., Maszczyk, A., & Ahmetov, I. I. (2018). Individual Responsiveness to Exercise-Induced Fat Loss and Improvement of Metabolic Profile in Young Women is Associated with Polymorphisms of Adrenergic Receptor Genes. *Journal of Sports*

- Lucia, A., Gómez-Gallego, F., Barroso, I., Rabadán, M., Bandrés, F., San Juan, A. F., Chicharro, J. L., Ekelund, U., Brage, S., Earnest, C. P., Wareham, N. J., & Franks, P. W. (2005). PPARGC1A genotype (Gly482Ser) predicts exceptional endurance capacity in European men. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 99(1), 344-348.
- Ma, F., Yang, Y., Li, X., Zhou, F., Gao, C., Li, M., & Gao, L. (2013). The Association of Sport Performance with ACE and ACTN3 Genetic Polymorphisms: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLOS ONE*, 8(1), e54685.
- MacArthur, D. G., & North, K. N. (2007). ACTN3: A genetic influence on muscle function and athletic performance. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 35(1), 30-34.
- Massidda, M., Scorcu, M., & Calò, C. M. (2014). New Genetic Model for Predicting Phenotype Traits in Sports. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 9(3), 554-560.
- Moreira, S. R., Nóbrega, O. T., Santana, H. A. P., Sales, M. M., Farinatti, P. T. V., & Simões, H. G. (2018). Impact of ACE I/D gene polymorphism on blood pressure, heart rate variability and nitric oxide responses to the aerobic exercise in hypertensive elderly. *Revista Andaluza de Medicina del Deporte*, 11(2), 57-62.
- Moreno-Villanueva, M., Kramer, A., Hammes, T., Venegas-Carro, M., Thumm, P., Bürkle, A., & Gruber, M. (2019). Influence of Acute Exercise on DNA Repair and PARP Activity before and after Irradiation in Lymphocytes from Trained and Untrained Individuals. *International Journal of Molecular Sciences* 2019, Vol. 20, Page 2999, 20(12), 2999.
- Muhammad, M. H., & Allam, M. M. (2018). Resveratrol and/or exercise training counteract aging-associated decline of physical endurance in

- aged mice; targeting mitochondrial biogenesis and function. *The Journal of Physiological Sciences*, 68(5), 681-688.
- Musci, R. V., Fuqua, J. D., Peelor, F. F., Nguyen, H. V. M., Richardson, A., Choi, S., Miller, B. F., & Wanagat, J. (2025). Age-induced changes in skeletal muscle mitochondrial DNA synthesis, quantity, and quality in genetically unique rats. *GeroScience*, 47(1), 851-862.
- Naureen, Z., Perrone, M., Paolacci, S., Maltese, P. E., Dhuli, K., Kurti, D., Dautaj, A., Miotto, R., Casadei, A., Fioretti, B., Beccari, T., Romeo, F., & Bertelli, M. (2020). Genetic test for the personalization of sport training. *Acta Bio Medica: Atenei Parmensis*, 91(Suppl 13), e2020012.
- Nazari, M., Minasian, V., & Sharifian, M. J. (2024). Effect of Exercise Training on Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ (PPAR- γ) Level: A Systematic Review. *Asian J Sports Med*, 15(1), 136944.
- Nishida, Y., Iyadomi, M., Higaki, Y., Tanaka, H., Kondo, Y., Otsubo, H., Horita, M., Hara, M., & Tanaka, K. (2015). Association between the PPARGC1A Polymorphism and Aerobic Capacity in Japanese Middle-aged Men. *Internal Medicine*, 54(4), 359-366.
- Pareja-Galeano, H., Sanchis-Gomar, F., & García-Giménez, J. L. (2014). Physical Exercise and Epigenetic Modulation: Elucidating Intricate Mechanisms. *Sports Medicine* 2013 44:4, 44(4), 429-436.
- Pataky, M. W., Dasari, S., Michie, K. L., Sevits, K. J., Kumar, A. A., Klaus, K. A., Heppelmann, C. J., Robinson, M. M., Carter, R. E., Lanza, I. R., & Nair, K. S. (2023). Impact of biological sex and sex hormones on molecular signatures of skeletal muscle at rest and in response to distinct exercise training modes. *Cell Metabolism*, 35(11), 1996-2010.e6.
- Pickering, C., & Kiely, J. (2017). Understanding Personalized Training Responses: Can Genetic Assessment Help? *The Open Sports Sciences Journal*, 10(1), 191-213.

- Plaza-Diaz, J., Izquierdo, D., Torres-Martos, Á., Baig, A. T., Aguilera, C. M., & Ruiz-Ojeda, F. J. (2022). Impact of Physical Activity and Exercise on the Epigenome in Skeletal Muscle and Effects on Systemic Metabolism. *Biomedicines* 2022, Vol. 10, Page 126, 10(1), 126.
- Plomin, R., & von Stumm, S. (2021). Polygenic scores: prediction versus explanation. *Molecular Psychiatry* 2021 27:1, 27(1), 49-52.
- Powers, S. K., Radak, Z., Ji, L. L., & Jackson, M. (2024). Reactive oxygen species promote endurance exercise-induced adaptations in skeletal muscles. *Journal of Sport and Health Science*, 13(6), 780.
- Radak, Z., Ishihara, K., Tekus, E., Varga, C., Posa, A., Balogh, L., Boldogh, I., & Koltai, E. (2017). Exercise, oxidants, and antioxidants change the shape of the bell-shaped hormesis curve. *Redox Biology*, 12, 285-290.
- Rankinen, T., Roth, S. M., Bray, M. S., Loos, R., Pérusse, L., Wolfarth, B., Hagberg, J. M., & Bouchard, C. (2010). Advances in exercise, fitness, and performance genomics. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 42(5), 835-846.
- Rea, I. M. (2017). Towards ageing well: Use it or lose it: Exercise, epigenetics and cognition. *Biogerontology* 2017 18:4, 18(4), 679-691.
- Rönn, T., Volkov, P., Davegårdh, C., Dayeh, T., Hall, E., Olsson, A. H., Nilsson, E., Tornberg, Å., Dekker Nitert, M., Eriksson, K. F., Jones, H. A., Groop, L., & Ling, C. (2013). A Six Months Exercise Intervention Influences the Genome-wide DNA Methylation Pattern in Human Adipose Tissue. *PLOS Genetics*, 9(6), e1003572.
- Saleem, A., & Safdar, A. (2010). Exercise-induced histone acetylation – playing tag with the genome. *The Journal of Physiology*, 588(Pt 6), 905.

- Santovito, A., Agostinovna Nigretti, A., Sellitri, A., Scarfò, M., & Nota, A. (2023). Regular Sport Activity Is Able to Reduce the Level of Genomic Damage. *Biology*, 12(8), 1110.
- Selin YILDIRIM, D., Settar KOÇAK, M., CERİT Lokman Hekim Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi, M., Eğitimi Bölümü, A., Lokman Hekim Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi, T., & Bölümü, Y. (2022). Genlerin Gizemli Dünyası: Fiziksel Performans ve Genetik Etkileşimler: Geleneksel Derleme. *Türkiye Klinikleri Journal of Sports Sciences*, 14(3), 357-362.
- Shimizu, J., & Kawano, F. (2022). Exercise-induced histone H3 trimethylation at lysine 27 facilitates the adaptation of skeletal muscle to exercise in mice. *Journal of Physiology*, 600(14), 3331-3353.
- Siu, P. M., Pei, X. M., Teng, B. T., Benzie, I. F., Ying, M., & Wong, S. H. (2011). Habitual exercise increases resistance of lymphocytes to oxidant-induced DNA damage by upregulating expression of antioxidant and DNA repairing enzymes. *Experimental Physiology*, 96(9), 889-906.
- Soci, U. P. R., Melo, S. F. S., Gomes, J. L. P., Silveira, A. C., Nóbrega, C., & de Oliveira, E. M. (2017). Exercise training and epigenetic regulation: Multilevel modification and regulation of gene expression. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1000, 281-322.
- Sommers, L., Akam, L., Hunter, D. J., Bhatti, J. S., & Mastana, S. (2024). Role of the ACE I/D Polymorphism in Selected Public Health-Associated Sporting Modalities: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 21(11), 1439.
- Spindler, C., Segabinazi, E., De Meireles, A. L. F., Piazza, F. V., Mega, F., Dos Santos Salvalaggio, G., Achaval, M., Elsner, V. R., & Marcuzzo, S. (2019). Paternal physical exercise modulates global DNA methylation status in the hippocampus of male rat offspring. *Neural Regeneration Research*, 14(3), 491-500.

- Spitsyna, T., & Borry, P. (2024). Ethical concerns in integrating sport-related concussion (SRC) genetic testing into return-to-play (RTP) protocols. *Sport, Ethics and Philosophy*, 18(3-4), 404-415.
- Światowy, W. J., Drzewiecka, H., Kliber, M., Szaśiadek, M., Karpiński, P., Pławski, A., & Jagodziński, P. P. (2021). Physical Activity and DNA Methylation in Humans. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, Vol. 22, Page 12989, 22(23), 12989.
- Şanlısoy, F., Altıntaş, N., Büyükyazı, G., Candan Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Uzm Bio Şanlısoy, N. F., Doç Altıntaş, Y. N., Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, C., Sağlık Bilimleri, S., Eğitimi ve Spor Öğretimi, B., & Bayar Üniversitesi Beden Eğitimi Spor Yüksek Okulu, C. (2011). Ege bölgesi elit sporcularının ACTN3 R577X genotip dağılımının araştırılması Investigation of ACTN3 R577X genotype distribution of elite athletes in the Aegean region. *Cumhuriyet Medical Journal*, 33, 153-159.
- Tan, M. J. T., Kasireddy, H. R., Satriya, A. B., Abdul Karim, H., & AlDahoul, N. (2024). Health is beyond genetics: on the integration of lifestyle and environment in real-time for hyper-personalized medicine. *Frontiers in Public Health*, 12, 1522673.
- Thomas, C., Ji, Y., Wu, C., Datz, H., Boyle, C., MacLeod, B., Patel, S., Ampofo, M., Currie, M., Harbin, J., Pechenkina, K., Lodhi, N., Johnson, S. J., & Tulin, A. V. (2019). Hit and run versus long-term activation of PARP-1 by its different domains fine-tunes nuclear processes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(20), 9941-9946.
- Tryfidou, D. V., McClean, C., Nikolaidis, M. G., & Davison, G. W. (2019). Correction to: DNA Damage Following Acute Aerobic Exercise: A Systematic Review and Meta-analysis. *Sports Medicine (Auckland, N.z.)*, 50(1), 129.
- Tynkkynen, N. P., Törmäkangas, T., Palviainen, T., Hyvärinen, M., Klevjer, M., Joensuu, L., Kujala, U., Kaprio, J., Bye, A., & Sillanpää, E. (2023). Associations of polygenic inheritance of physical activity

- with aerobic fitness, cardiometabolic risk factors and diseases: the HUNT study. *European Journal of Epidemiology* 2023 38:9, 38(9), 995-1008.
- Varillas-Delgado, D. (2024). Role of the PPARGC1A Gene and Its rs8192678 Polymorphism on Sport Performance, Aerobic Capacity, Muscle Adaptation and Metabolic Diseases: A Narrative Review. *Genes*, 15(12).
- Vilela, T., De Andrade, V., Radak, Z., & De Pinho, R. (2020). The role of exercise in brain DNA damage. *Neural Regeneration Research*, 15(11), 1981-1985.
- Voisin, S., Eynon, N., Yan, X., & Bishop, D. J. (2015). Exercise training and DNA methylation in humans. *Acta Physiologica*, 213(1), 39-59.
- Voisin, S., Seale, K., Jacques, M., Landen, S., Harvey, N. R., Haupt, L. M., Griffiths, L. R., Ashton, K. J., Coffey, V. G., Thompson, J. L. M., Doering, T. M., Lindholm, M. E., Walsh, C., Davison, G., Irwin, R., McBride, C., Hansson, O., Asplund, O., Heikkinen, A. E., ... Eynon, N. (2024). Exercise is associated with younger methylome and transcriptome profiles in human skeletal muscle. *Aging Cell*, 23(1), e13859.
- Widmann, M., Nieß, A. M., & Munz, B. (2019). Physical Exercise and Epigenetic Modifications in Skeletal Muscle. *Sports Medicine* 2019 49:4, 49(4), 509-523.
- Williamson, J., & Davison, G. (2020). Targeted Antioxidants in Exercise-Induced Mitochondrial Oxidative Stress: Emphasis on DNA Damage. *Antioxidants* 2020, Vol. 9, Page 1142, 9(11), 1142.
- Xie, Y., Gu, Y., Li, Z., Zhang, L., & Hei, Y. (2025). Effects of exercise on different antioxidant enzymes and related indicators: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Scientific Reports* 2025 15:1, 15(1), 12518-.
- Yang, N., MacArthur, D. G., Gulbin, J. P., Hahn, A. G., Beggs, A. H., Eastal, S., & North, K. (2003). ACTN3 genotype is associated with

- human elite athletic performance. *American Journal of Human Genetics*, 73(3), 627-631.
- Yang, X., Zhang, Y., Wang, X., Chen, S., Zheng, Y., Hou, X., Wang, S., Zheng, X., Li, Q., Sun, Y., & Wu, J. (2025). Exercise-mediated epigenetic modifications in cardiovascular diseases. *Epigenomics*, 17(3), 179-191.
- Yumi Noronha, N., da Silva Rodrigues, G., Harumi Yonehara Noma, I., Fernanda Cunha Brandao, C., Pereira Rodrigues, K., Colello Bruno, A., Sae-Lee, C., Moriguchi Watanabe, L., Augusta de Souza Pinhel, M., Mello Schineider, I., Luciano de Almeida, M., Barbosa Júnior, F., Araújo Morais, D., Tavares de Sousa Júnior, W., Plösch, T., Roberto Bueno Junior, C., & Barbosa Nonino, C. (2022). 14-weeks combined exercise epigenetically modulated 118 genes of menopausal women with prediabetes. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 895489.
- Zhang, S., & Kiarasi, F. (2024). Therapeutic effects of resveratrol on epigenetic mechanisms in age-related diseases: A comprehensive review. *Phytotherapy Research*, 38(5), 2347-2360.
- Zheng, X., Liu, X., Guo, Y., Lv, Y., Lin, C., Wang, D., Wang, S., Liu, Y., & Hu, X. (2025). Physical exercise and epigenetic modifications in skeletal muscle, brain, and heart. *Epigenetics & Chromatin* 2025 18:1, 18(1), 12-.
- Zouhal, H., Coso, J. Del, Jayavel, A., Tourny, C., Ravé, G., Jebabli, N., Clark, C. C. T., Barthélémy, B., Hackney, A. C., & Abderrahman, A. Ben. (2023). Association between ACTN3 R577X genotype and risk of non-contact injury in trained athletes: A systematic review. *Journal of Sport and Health Science*, 12(3), 359-368.

BÖLÜM 2

OBEZİTE PATOGENEZİNDE ADİPOSİT APOPTOZUNUN ROLÜ

CANSU ÖZBAYER¹
EMİNE YAĞCI²

Giriş

Obezitenin görülme sıklığı dünya genelinde giderek artmakta ve bu durum bireyleri başta tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere birçok metabolik hastalık açısından daha yüksek risk altına sokmaktadır. Güncel obezite tedavi yaklaşımları, kısa vadede kilo kaybı sağlasa da, uzun dönemde sıklıkla kilo geri alımı ile sonuçlanmakta ve bu nedenle kalıcı başarı oranları düşük kalmaktadır. Bu tablo, obezitenin önlenmesi ve tedavisinde daha etkili stratejilerin geliştirilmesi için yağ dokusu birikimini düzenleyen hücresel ve moleküler mekanizmaların ayrıntılı biçimde anlaşılmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır (A Sorisky, Magun, & Gagnon, 2000; Y. Zhang & Huang, 2012).

¹ Prof. Dr., Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Orcid: 0000-0002-1120-1874

² Dr. Öğr. Üyesi, Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Orcid: 0000-0003-2179-1318

Obezite, özellikle Batı toplumlarında halk sağlığı açısından önemli bir sorun haline gelmiş, yaygınlığı hızla artan küresel bir hastalık olarak dikkat çekmiştir. Temelinde, alınan fazla enerjinin yağ dokusunda ve yağ dokusu dışındaki organlarda trigliseritler şeklinde depolanması yer almakta; bu durum insülin direnci, tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, hiperlipidemi, alkolsüz steatohepatit, inme ve bazı kanser türleriyle yakından ilişkilidir. Dolayısıyla obezitenin önlenmesi ve etkin şekilde tedavi edilmesi, bu eşlik eden hastalıkların görülme sıklığının azaltılmasında da önemli kazanımlar sağlayacaktır (A Sorisky & ark., 2000; Y. Zhang & Huang, 2012).

Buna karşın, obezite tedavisinde kullanılan pek çok farmakolojik ajan son yıllarda güvenlik ve etkinlik sorunları nedeniyle kullanım dışı bırakılmıştır. Günümüzde uzun süreli kullanım için onaylanmış sınırlı sayıda tedavi seçeneği bulunmakta olup, bunlar arasında orlistat öne çıkmaktadır. Mevcut seçeneklerin yetersizliği, obeziteyle mücadelede yeni ve daha etkili terapötik yaklaşımların geliştirilmesine duyulan acil ihtiyacı açıkça ortaya koymaktadır (Y. Zhang & Huang, 2012).

Obezite, yağ hücresi sayısında ve boyutunda artışla karakterize edilir. Yağ dokusu hücresellliği, ön yağ hücrelerinin oynadığı dinamik rolle bağlantılıdır. Yağ dokusunun stromal-vasküler bölmesinde bulunan ön yağ hücreleri, uygun şekilde uyarıldığında nihai olgun yağ hücrelerine farklılaşmak için karmaşık bir gen ekspresyon programından geçen özelleşmiş fibroblast benzeri öncü hücrelerdir. Hücre popölasyonu, ön yağ hücrelerinin yağ hücrelerine farklılaşması ve muhtemelen yağ hücrelerinin ön yağ hücrelerine geri farklılaşması yoluyla kontrol edilebilir. Ön yağ hücrelerinin karmaşık kaderi, aşırı yağ dokusu birikimini azaltmayı amaçlayan yeni moleküler stratejiler için onları cazip bir hedef haline getirmektedir (A Sorisky & ark., 2000).

Apoptoz, plazma membranında kabarcık oluşumu, sitoplazma yoğunlaşması, DNA parçalanması ve apoptotik cismin makrofajlar tarafından fagositozu ile karakterize edilir ve bunların tümü anti-apoptotik ve pro-apoptotik proteinler tarafından düzenlenir. Apoptoz, tehlikeli ve gereksiz hücreleri ortadan kaldırarak homeostazı korumak için gereklidir. Örneğin, kanser ilaçları, apoptoz aktivasyonu yoluyla karsinom hücrelerinin ve diğer aşırı büyümüş hücrelerin büyümesini engeller. Bununla birlikte, adipositler yüksek Akt/protein kinaz B ve anti-apoptotik faktör Bcl-2 seviyeleri nedeniyle apoptoza dirençlidir. Yağ hücreleri, tümör kaşeksisi olan hastalarda ve antiretroviral tedavi gören HIV enfeksiyonlu hastalarda olduğu gibi bazı patolojik durumlarda apoptoz mekanizmaları yoluyla ortadan kaldırılabilir. Bu nedenle, yağ hücrelerinde apoptozun indüklenmesi, yağ hücresi sayısını azaltmak için cazip bir yöntem olabilir (Y. Zhang & Huang, 2012).

Obezite ve Adiposit Apoptozu

Obezite ile birlikte visseral yağ dokusunda yalnızca adiposit sayısı ve hacminde artış değil, aynı zamanda programlı hücre ölümü (apoptoz) süreçlerinde de belirgin bir artış meydana gelmekte olup aynı zamanda dinamik bir doku yeniden şekillenmesi (adipose tissue remodeling) süreci ile karakterizedir (Alkhouri & ark., 2010; Lee, Wu, & Fried, 2010).

Bu süreçte adiposit hipertrofisi, hipoksi, inflamasyon, bağ dokusu birikimi ve adiposit ölümü (özellikle apoptoz) bir arada görülmektedir. Obezite ilerledikçe adipositlerin aşırı büyümesi, hücresel stres ve oksijen yetersizliği gibi faktörler yoluyla programlı hücre ölümünü tetiklemekte, bu da yağ dokusunun yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü bozmaktadır (Lee & ark., 2010).

Hem obez fare modellerinde hem de obez bireylerde yapılan çalışmalar, visseral adipositlerde apoptozun anlamlı derecede yükseldiğini göstermektedir. Bu durum, dışsal ölüm reseptörleri

aracılı yollar ile mitokondriyal (içsel) apoptoz yollarının eş zamanlı olarak aktive olmasıyla ilişkilidir. Obezite koşullarında visseral yağ dokusunda caspase aktivasyonunun artması ve TUNEL-pozitif adipositlerin sayısındaki yükselme, adiposit apoptozunun arttığını açık biçimde ortaya koymaktadır (Alkhoury & ark., 2010).

Moleküler düzeyde bakıldığında, obezite koşullarında Fas/FasL gibi ölüm reseptörlerinin ekspresyonunun artması ve mitokondriyal pro-apoptotik faktörlerin aktive olması, adipositlerde apoptoz sinyalinin belirgin şekilde güçlenmesine yol açmaktadır. Bunun yanı sıra, dışsal ve içsel apoptoz yolları arasında kritik bir bağlantı sağlayan Bid proteininin aktif forma dönüşümünün obezitede arttığı, bu iki yolun birbirini karşılıklı olarak güçlendirdiğini düşündürmektedir. Artmış adiposit apoptozu, yağ dokusunda makrofaj infiltrasyonunu tetikleyerek kronik düşük dereceli inflamatuvar bir mikroçevrenin oluşmasına katkıda bulunur. Bu inflamatuvar ortam, yalnızca yağ dokusu fonksiyonlarını bozmakla kalmayıp, aynı zamanda insülin direncinin gelişimini ve karaciğerde yağ birikimini (hepatik steatoz) destekleyen önemli bir mekanizma olarak öne çıkmaktadır. Nitekim adiposit ölümü ile yağ dokusundaki makrofaj infiltrasyonu arasında pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiş olup, bu bulgular adiposit apoptozunun obeziteye bağlı metabolik bozuklukların patogeneğinde aktif ve belirleyici bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (Alkhoury & ark., 2010; Cinti & ark., 2005; Sun, Kusminski, & Scherer, 2011).

Adiposit Yaşam Döngüsü

Obeziteye yol açan biyolojik olaylar, yağ hücrelerinin hücre özelliklerindeki değişikliklerle karakterize edilir ve sayı veya boyut veya her ikisinde de artışı içerebilir. Yağ hücreleri, miyoblastlara, kondroblastlara, osteoblastlara veya yağ hücrelerine farklılaşma potansiyeline sahip mezenkimal kök hücrelerden türetilir. Yağ hücresi yaşam döngüsü, hücre şeklinin değişmesini ve büyümenin

durmasını, klonal genişlemeyi ve lipid depolanmasına ve nihayetinde hücre ölümüne yol açan gen ekspresyonunda karmaşık bir dizi değişikliği içerir (Rayalam, Della-Fera, & Baile, 2008).

Büyüme evresinde, ön yağ hücreleri morfolojik olarak fibroblastlara benzer. Ön yağ hücreleri tarafından salgılanan bir faktör olan Pref-1, ön yağ hücreleri için bir işaretleyici görevi görür ve yağ hücresi farklılaşması sırasında ortadan kaldırılır. Yol ayrımında, ön yağ hücreleri farklılaşma sürecine girmeden önce büyüme durdurması adı verilen bir dinlenme evresine girer. İki transkripsiyon faktörü olan CCAAT/güçlendirici bağlayıcı protein (C/EBP α) ve peroksizom proliferatörle aktive olan reseptör (PPAR) γ 'nın, yağ hücresi farklılaşması için gerekli olan ön yağ hücresi büyüme durdurmasında rol oynadığı gösterilmiştir. Büyüme durdurmasının ardından, ön yağ hücreleri, sonraki farklılaşma adımlarını sürdürmek için uygun kombine bir mitojenik ve adipojenik sinyal iletilmesi almalıdır. Farklılaşma sürecinde, ön yağ hücreleri, bağlı hücrelerin klonal çoğalmasına yol açan bir DNA replikasyon sürecine girer. Farklılaşmanın indüksiyonu, hücrelerin fibroblastik şekilden küresel şekle dönüşmesiyle hücre şeklinde de önemli bir değişikliğe yol açar (Rayalam & ark., 2008).

İndüksiyonu takiben, Pref-1 ekspresyonunda dramatik bir azalma, C/EBP β ekspresyonunda hızlı bir artışa eşlik eder, ardından C/EBP α ve PPAR γ ekspresyonu gelir. Farklılaşmanın son aşamalarında, gliserol-3-fosfat dehidrojenaz, yağ asidi sentaz ve gliser aldehit-3-fosfat dehidrojenaz gibi triasilgliserol metabolizmasında yer alan enzimlerin mRNA seviyeleri büyük ölçüde artar. Son olarak, bir zamanlar toplam adiposit sayısının yaşam boyunca değişmediğine inanılsa da, artık yeni adipositlerin oluşabileceği veya apoptoz süreciyle ortadan kaldırılabilceği kabul edilmektedir (Rayalam & ark., 2008).

Apoptotik Yolak

Apoptoz, enerjiye bağımlı, biyokimyasal olarak aracılık edilen programlanmış hücre ölümü sürecidir. Enfekte veya transforme olmuş hücreler gibi seçilmiş hücrelerin ortadan kaldırılması, düzgün çalışan bir bağışıklık sistemi, organizma gelişimi ve vücutta homeostazın ve normal hücre döngüsünün korunması dahil olmak üzere birçok süreç için gereklidir. Apoptotik yolların iki ana dalı, hücre ölümünü başlatan sinyallerin sırasıyla hücre içinden veya dışından kaynaklandığı içsel ve dışsal apoptotik yollardır (Yanumula & Cusick, 2020).

Dışsal apoptotik yol (ekstrinsik yol), çoğunlukla Doğal Katil (NK) lenfositleri veya CD8-pozitif Sitotoksik T lenfositleri (CTL'ler) tarafından hücre dışından kaynaklanan bir ölüm sinyali ile başlar. Bu hücre yüzey reseptörleri, örneğin tümör nekroz faktörü reseptörü 1 (TNFR1) veya Fas, spesifik ligandlara bağlanır ve apoptotik basamağı başlatır. Pro-kaspaz 8 molekülleri, adaptör proteinlerine bağlanarak ölüm reseptörlerinin yakınında bir araya getirilir ve daha sonra diğer kaspazları aktive eden giderek artan sayıda kaspaz 8 molekülünü aktive eden otokatalitik bir süreci başlatır (Herold, Rennekampff, & Engeli, 2013; Yanumula & Cusick, 2020).

Buna karşılık içsel yol, DNA hasarını, viral patojenlerin varlığını veya diğer hücrelerden dışarıdan sağlanan hayatta kalma sinyallerinin yokluğunu algılayan hücre içi sensörlerden başlar ve ikinci mitokondri kaynaklı kaspaz aktivatörü (SMAC) veya sitokrom c gibi proteinler içerir (Herold & ark., 2013; Yanumula & Cusick, 2020).

Tüm yollar, kaspazlar olarak da adlandırılan substrata özgü sistein proteazların aktivasyonuna neden olur. Bunlar apoptozun efektör molekülleridir ve şimdiye kadar 14 farklı kaspaz tanımlanmıştır. Kaspazlar ya efektör ya da başlatıcı olarak çalışır.

Kaspazların aktif alt birimlerine parçalanmış kaspazlar denir. Hücre içi parçalanmış kaspazların varlığı, aktive edilmiş apoptotik yollar hakkında bilgi verir. Mitokondriye bağımlı ve ölüm reseptörüne bağımlı apoptotik yolların aynı efektör kaspazları aktive ettiği, ancak farklı başlatıcı kaspazlarla başladığı bilinmektedir. Kaspaz 8, dışsal hücre ölümü yolunda bulunur. Aktive edilmiş kaspaz 8, kaspaz 3 gibi aşağı akış kaspazlarını parçalayabilir ve aktive edebilir ve sitokrom c salınımını tetikleyebilir. Kaspaz 9, mitokondri kaynaklı içsel apoptoz yolunda önemlidir. Mitokondriler, genellikle enerji metabolizmasını ve elektron taşınmasını durdurarak apoptotik kaskadın önemli bir rol oynuyor gibi görünmektedir. Apoptotik uyarım üzerine, sitokrom c mitokondrilerden salınır ve Asp315'te kendi kendine parçalanarak veya apoptotik proteaz aktive edici faktör 1'e (Apaf-1) bağlanarak kaspaz 9'u aktive eder. Parçalanmış kaspaz 9, apoptotik basamağı başlatmak için kaspaz 3 de dahil olmak üzere diğer kaspaz üyelerini daha da işler (Herold & ark., 2013).

Yağ Hücrelerinde Apoptoz Sinyali

Apoptotik hücre ölümü, dokuların sağlıklı gelişimi ve yenilenmesi için gerekli, doğal bir süreçtir. Normal koşullarda apoptotik hücreler, dokuda hasara yol açmadan makrofajlar tarafından hızla temizlenir ve bu temizlik süreci genellikle inflamasyona neden olmaz. Hatta apoptotik hücrelerle karşılaşan makrofajlar çoğu zaman anti-inflamatuar ve doku onarımını destekleyen bir fenotip kazanır. Ancak yağ dokusu bu açıdan diğer dokulardan ayrılır. Adipositlerin apoptozu, makrofajlar için “sessiz” bir temizleme süreci olmaktan ziyade, çoğu durumda inflamatuvar yanıtları tetikleyen bir olay hâline gelir. Özellikle obezite koşullarında beyaz yağ dokusunun aşırı genişlemesi, adipositler üzerinde ciddi bir hücresel stres oluşturur ve bunun sonucunda adiposit ölümü artar. Ölen adipositlerin etrafında biriken makrofajlar, yağ dokusunda kronik düşük dereceli inflamatuvar bir ortamın oluşmasına yol açar. Bu durum, yağ dokusunun yalnızca

yapısal bütünlüğünü değil, aynı zamanda endokrin ve metabolik işlevlerini de bozar. Ortaya çıkan inflamatuvar mikroçevre, insülin sinyalinin baskılanmasına ve metabolik organlarda insülin direncinin gelişmesine katkıda bulunur. Dolayısıyla adiposit apoptozu, obezitede yalnızca hücresel bir sonuç değil, metabolik bozuklukların başlamasında ve sürdürülmesinde aktif rol oynayan temel bir mekanizma olarak değerlendirilmektedir (Röszer, 2021).

İki temel apoptoz yolağının da deneysel obezite modellerinde yağ dokuda aktive olduğu ve bu yolların inhibisyonunun, adiposit apoptozunu önleyip ve yağ dokusunu makrofaj infiltrasyonundan, hepatik steatozdan ve insülin direncinden koruduğu belirlenmiştir (Alkhoury & ark., 2010).

Sıçan yağ dokusunun immünofloresan incelemesi, mitokondri, endoplazmik retikulum ve ölüm reseptörleri yoluyla apoptotik yolların aktive edildiğini ve parçalanmış kaspaz 8, 9 ve kaspaz 12'nin tespit edildiğini göstermiştir. Ortak apoptotik yolun bir efektörü olarak parçalanmış kaspaz 3 de tespit edilmiştir (Herold & ark., 2013).

Yağ dokusunda Bcl-2 ve Bcl-XL gibi diğer düzenleyiciler de bulunmuştur. Bunlar hücre ölümü antagonistleri olarak hareket eder ve apoptozu önler ve hücre zarlarını stabilize eder. Yağ dokusu farklılaşması, yağ dokusuna özgü genlerin transaktivasyonu ile de düzenlenebilir (Della-Fera, Qian, & Baile, 2001). Nükleer faktör (NFκB) ve peroksizom proliferatörleri ile aktive olan reseptör γ (PPARγ), adipositlerde apoptotik sinyal iletim yolunda rol oynadığı tanımlanmıştır (Chawla, Schwarz, Dimaculangan, & Lazar, 1994; Herold & ark., 2013). Metabolik duruma bağlı olarak, PPARγ pro-apoptotik veya anti-apoptotik bir rol oynayabilir. Birincil kültürlenmiş deri altı insan ön yağ hücrelerinde ve yağ hücrelerinde, çeşitli apoptotik ve anti-apoptotik yollar incelenmiştir (Della-Fera & ark., 2001; Fischer-Posovszky, Tornqvist, Debatin, & Wabitsch, 2004; Herold & ark., 2013). Ölüm reseptörleri CD95, TNFR1 ve

TNF ile ilişkili apoptozu indükleyen ligand reseptörleri 1 ve 2'nin tümü insan yağ hücrelerinde ifade edilir ve TNF- α gibi ligandlar tarafından aktive edilir. Bu hücrelerde, IGF-1, anti-apoptotik aktiviteye sahip önemli bir hormondur. FLIP'in (FLICE benzeri inhibitör protein) aşağı regülasyonunun, insan yağ hücresi apoptozunda da rol oynadığı ve hücreleri CD95 aracılı apoptotik uyarılara duyarlı hale getirdiği görülmektedir (Fischer-Posovszky & ark., 2011; Herold & ark., 2013).

Bu çalışmalar, apoptotik moleküler mekanizmanın kemirgen ve insan adipositlerinde mevcut olduğunu ve genel olarak diğer hücre tiplerinden farklı olmadığını açıkça göstermektedir. Ancak soru, apoptozun belirli durumlarda nasıl indüklendiğidir. Makrofaj birikiminin ve lokal yağ dokusu iltihabının adipositler üzerindeki doğrudan etkileri, makrofajlardan proapoptotik moleküllerin salgılanmasının artmasına neden olabilir. Bu in vitro bulgular, deri altı ve viseral yağ dokusundan alınan yağ dokusu eksplantlarına da genişletilmiştir. Bu eksplantlarda, makrofaj infiltrasyonunun bir belirteci olarak CD11c ekspresyonu ile apoptotik olgun adiposit sayısı arasında yakın bir korelasyon bulunmuştur. Öte yandan, yağ dokusuna makrofaj infiltrasyonu kısmen adiposit nekrozu ve eş zamanlı kemotaktik moleküllerin salgılanmasıyla aracılık edilir. Bu iki yönü göz önünde bulundurarak, adiposit ölümü ile makrofaj infiltrasyonu arasındaki ilişki düşünüldüğünde tavuk mu yumurta mı ikilemi ortaya çıkar ve büyük olasılıkla her iki durum da in vivo olarak meydana gelebilir (Cinti & ark., 2005; Herold & ark., 2013; Keuper & ark., 2011).

TNF- α , adipositlerde programlı hücre ölümünü tetiklediği, ghrelinin bu sitokin sinyalini zayıflatarak kaspaz-8 ve kaspaz-3 aktivasyonunu engelleyerek apoptozu azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca ghrelin, otofaji ile ilişkili genleri baskılayarak hücrel stres yanıtını modüle eder (Herold & ark., 2013; Rodríguez & ark., 2012).

Konjuge linoleik asitlerin (CLA) insan yağ hücreleri (preadipositler ve olgun adipositler) üzerinde direkt etkilerini araştırıldığı bir çalışmada iki önemli CLA izomeri olan cis-9, trans-11 ve trans-10, cis-12 izomerleri hem preadipositlerin çoğalmasını (proliferasyonunu) hem de yağ birikimini inhibe etmiştir. Trans-10, cis-12 izomeri, bu inhibisyon ve apoptoz indüksiyonunda cis-9, trans-11 izomerine göre daha güçlü bulunmuştur. CLA ile yüksek doz tedavisi preadipositlerde, farklılaşmakta olan yağ hücrelerinde ve olgun adipositlerde apoptozu artırmıştır. Bu apoptoz artışı, CLA'nın insan yağ hücrelerinde programlı hücre ölümünü doğrudan tetiklediğini göstermektedir (Fischer-Posovszky, Kukulus, Zulet, Debatin, & Wabitsch, 2007).

Adipoz Dokuda Apoptozu Etkileyen Faktörler

Yağ hücresi apoptozunu tetikleyen bileşikler vücut yağ içeriğini azaltabilir ve bu etki, sadece lipid mobilizasyonunun neden olduğu vücut yağ azalmasından çok daha uzun sürebilir. Apoptoz, hücresel homeostazın korunmasında önemli bir rol oynayan bir hücre intiharı biçimidir ve bazen kontrolsüz hücreleri ve gelişmeyi engelleyen hücreleri ortadan kaldırmak için gereklidir. Birçok uyarıcı apoptozu tetiklese de, iki ana sinyal yolu vardır: ölüm reseptörü yolu ve mitokondriyal yol. Bir dizi moleküler adım, bu yolların her ikisinde de kaspazların aktivasyonuna yol açar. Son olarak bu, bir dizi nükleer ve sitoplazmik substratın parçalanmasına ve hücre ölümüne neden olur (Rayalam & ark., 2008).

Eskiden yağ dokusunun fizyolojik rolleri sınırlı olarak kabul ediliyordu; bu roller esas olarak besin fazlalığından sonra enerji depolama ve soğuktan korunma ile ilgiliydi. Günümüzde yağ dokusunun endokrin, metabolik ve immün düzenleyici rollere sahip karmaşık bir organ olduğu kabul edilmektedir. Yağ depolarının, otokrin ve parakrin şekilde lokal olarak veya endokrin şekilde periferik olarak çalışan "adipokinler" veya "adipositokinler" olarak

adlandırılan 20'den fazla hormon ve sinyal molekülü salgıladığı belirlenmiştir. Normal koşullar altında, adipositokinler, lipid metabolizması, glukoz homeostazı, insülin duyarlılığı, anjiyogeneze, kan basıncı ve inflammatuar süreçler gibi iştah ve enerji dengesinde genel bir rol oynayan çok sayıda fizyolojik süreci düzenler. Ancak obezitede, adiposit hipertrofisi ve "hiperplazi" olarak adlandırılan aşırı yağ dokusu birikimi, yağ depoları içindeki hassas mikro çevreyi bozarak fizyolojik süreçlerini değiştirir. Bu durum, patojenik yağ hücrelerinin ve yağ dokusuyla ilgili bozuklukların gelişimini sağlayan "adipozopati"ye neden olur (Booth, Magnuson, Fouts, & Foster, 2015).

Metabolik Faktörler

Lipotoksisite

Obezitede yağ dokusunun lipid depolama kapasitesinin aşılmasıyla birlikte, serbest yağ asitleri ve toksik lipid ara ürünleri adipositlerde birikmekte; bu durum hücresel homeostazın bozulmasına yol açmaktadır. Normalde metabolik adaptasyon kapasitesine sahip olan adipositler, kronik lipid yükü altında bu dengeyi sürdürememekte ve apoptotik sinyallere daha duyarlı hâle gelmektedir (A. B. Engin, 2024).

Lipotoksisite, serbest yağ asitleri ve toksik lipid ara ürünlerinin hücre içinde aşırı birikmesi sonucu ortaya çıkan ve özellikle adipositlerde hücresel stres yanıtlarının belirgin şekilde artmasına yol açan bir durumdur. Fizyolojik koşullarda adipositler, fazla enerjiyi nötr trigliseridler şeklinde depolayarak hem hücresel hem de sistemik metabolik dengenin korunmasında temel bir rol üstlenir. Ancak obezite koşullarında yağ dokusunun genişleme ve lipid depolama kapasitesinin sınırlarına ulaşılmasıyla birlikte bu koruyucu mekanizma yetersiz kalmakta, adipositler kronik ve aşırı lipid yüküne maruz kalarak metabolik stres altına girmektedir. Bu stres ortamı, hücresel adaptasyon mekanizmalarının aşılmasına

neden olmakta ve adipositlerin metabolik yükü tolere edemeyerek apoptoza yatkın hâle gelmesine yol açmaktadır (A. Engin, 2024; Kusminski, Shetty, Orci, Unger, & Scherer, 2009).

Özellikle doymuş yağ asitleri adipositlerde endoplazmik retikulum stresi, mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stres gibi birbirini güçlendiren ve besleyen stres yollarını aktive etmekte ve bu süreçler, mitokondriyal membran bütünlüğünün bozulmasına, sitokrom c salınımına ve kaspaz aktivasyonuna yol açarak içsel (mitokondriyal) apoptotik yolun tetiklenmesini kolaylaştırmaktadır. Böylece lipotoksisite, adipositlerde hayatta kalma mekanizmalarını zayıflatarak hücrel homeostazın kaybına ve programlı hücre ölümünün başlatılmasına neden olmaktadır (A. B. Engin, 2024; Kusminski & ark., 2009).

Apoptotik adipositlerin temizlenmesi sürecinde artan makrofaj birikimi, yağ dokusunda kronik düşük dereceli inflamatuvar bir mikroçevrenin oluşmasına ve sürdürülmesine katkıda bulunmaktadır. Bu inflamatuvar ortam, insülin sinyal yollarını olumsuz etkileyerek insülin direncinin derinleşmesine ve metabolik dengenin bozulmasına zemin hazırlamaktadır. Dolayısıyla lipotoksisiteye bağlı adiposit apoptozu, lipid metabolizmasındaki bozulma ile diyabet ve obeziteye eşlik eden sistemik metabolik disfonksiyonlar arasında kritik bir ara basamak olarak değerlendirilmektedir (A. Engin, 2024; Kusminski & ark., 2009).

Hiperglisemi ve glukotoksisite

Hiperglisemi, dolaşımdaki glukoz düzeylerinin kronik olarak normalin üzerinde seyretmesi durumu olarak tanımlanmakta; glukotoksisite ise bu kronik yüksek glukoz maruziyetinin hücrelerde yapısal ve fonksiyonel hasara yol açması süreci olarak ele alınmaktadır. Yüksek glukoz düzeyleri adipositlerde metabolik yükü artırarak hücrel homeostazı bozduğunu ve oksidatif stres,

inflamasyon ve endoplazmik retikulum stresi gibi hücresel stres yanıtlarını aktive etmektedir. Bu stres koşulları altında adipositlerin insüline yanıtı zayıflamakta, adipokin salınım profili değişmekte ve hücre sağkalımını destekleyen sinyal yolları baskılanmaktadır. Bu durum, adipositlerin kronik metabolik strese karşı toleransının azalmasına ve hücre ölümüne yatkın hâle gelmesine yol açmaktadır (Alexander Sorisky, 2017).

Özellikle kronik hiperglisemi koşullarında, adipoz dokuda TXNIP (thioredoxin-interacting protein) ekspresyonunun belirgin şekilde arttığı ve buna eşlik eden caspase-1 aktivasyonunun ortaya çıktığı gösterilmiştir. TXNIP, hücresel redoks dengesinin bozulmasıyla ilişkili temel bir düzenleyici olup, artmış ekspresyonu adipositlerde oksidatif stresin derinleştiğini göstermektedir. Caspase-1 aktivasyonu her ne kadar inflamatuvar hücre ölümü (piroptoz) ile yakından ilişkili olsa da, bu yolların aktive edilmesi adipositlerde genel olarak pro-apoptotik bir mikroçevrenin oluşmasına katkıda bulunmaktadır. Bu durum, hiperglisemi koşullarında adipositlerin artan metabolik ve oksidatif yükü tolere edemeyerek programlı hücre ölümüne daha yatkın hâle gelmesine yol açmaktadır (Koenen & ark., 2011).

Hiperglisemi adipositlerde doğrudan apoptozu tetikleyen bir mekanizma değildir; ancak glukotoksisiteye bağlı gelişen oksidatif stres ve inflamatuvar mikroçevre, adipositlerde pro-apoptotik sinyallerin baskın hâle gelmesini kolaylaştırmaktadır. Yüksek glukoz koşullarında artan reaktif oksijen türleri üretimi, mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ve stres ilişkili sinyal yollarının aktivasyonu, adipositlerin hücresel bütünlüğünü zayıflatarak programlı hücre ölümüne giden süreci desteklemektedir (Alexander Sorisky, 2017).

İnsülin direnci

İnsülin direnci, insülinin hedef dokularda (özellikle yağ dokusu, kas ve karaciğer) glukoz alımını ve metabolik yanıtları yeterince uyaramaması durumudur ve bu obezite ve metabolik sendromun temel patofizyolojik bileşenlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Luk & ark., 2023). İnsülin direncinin, yalnızca glukoz metabolizmasında bir bozulma olmadığını; aynı zamanda adipositlerin yaşamsal bütünlüğünü ve hücresel kaderini doğrudan etkileyen bir süreçtir. Normal fizyolojik koşullarda insülin, adipositlerde glukoz alımını artırmanın yanı sıra lipogenezi destekleyen ve hücre sağkalımını koruyan temel bir sinyaldir. Ancak obezite ve metabolik hastalıklarda gelişen insülin direnci, bu koruyucu sinyallerin zayıflamasına yol açmaktadır (Imi, Ogawa, & Hosooka, 2023).

Yapılan çalışmalarda obez farelerde ve insanlarda, visseral yağ dokusunun genişlemesiyle birlikte, adipositlerde apoptotik sinyallerin belirgin şekilde aktive olduğu gösterilmiştir. Bu durum, hem ölüm reseptörü (extrinsic) hem de mitokondriyal (intrinsic) apoptoz yollarının eş zamanlı tetiklenmesi ile ilişkilidir ve caspase aktivasyonunun artmasıyla sonuçlanır. Apoptozun artması ile tetiklenen inflamasyon döngüsü insülin sinyal yollarını doğrudan bozarak insülin direncini derinleştirmektedir. Bu bağlamda, apoptozun sadece hücre ölümü ile sınırlı kalmadığı; aynı zamanda sistemik metabolik homeostazı da bozduğu bildirilmiştir (Alkhouri & ark., 2010).

Özellikle metabolik sendrom ve obezite modellenmiş farelerde, Caspase-8 aracılı adiposit apoptozunun insülin duyarlılığını azaltarak sistemik insülin direnci gelişimini desteklediği saptanmıştır. Normal koşullarda Caspase-8, adipositlerde aşırı hücresel stres durumlarında kontrollü apoptozu sağlayarak doku bütünlüğünün korunmasına katkıda bulunur. Ancak Caspase-8 sinyalinin baskılanması veya düzensizleşmesi

durumunda, adipositler kontrollü hücre ölümü yerine inflamatuvar hücre ölümüne ve stres yanıtlarına yönelmektedir. Bu etki, yağ dokusundaki enerji homeostazının bozulması ve adipokin dengesinin değişmesine eşlik eden inflamasyon ile güçlenmektedir (Luk & ark., 2023).

Oksidatif Stres

Obezite ve metabolik bozukluklar sırasında yağ dokusunun genişlemesiyle birlikte adipositlerde artan besin yükü, lokal hipoksi ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini belirgin şekilde artırmaktadır. Ortaya çıkan bu oksidatif stres durumu, adipositlerde hücresel homeostazın bozulmasına ve stres yanıtlarının aktive olmasına yol açmaktadır. Özellikle kronik ROS birikimi, hücre sağkalım mekanizmalarını zayıflatarak apoptoz sinyal yollarının baskın hâle gelmesine neden olmakta; bu süreç ise adiposit kaybı ve yağ dokusu bütünlüğünün bozulmasıyla sonuçlanmaktadır (Cao & ark., 2017; Maslov & ark., 2019).

Kronik oksidatif stres, adipositlerde lipid peroksidasyonu, protein ve DNA hasarı ile mitokondriyal membran bütünlüğünün bozulmasına neden olmakta; bu yapısal ve fonksiyonel değişiklikler, hücre içi stres yanıtlarının ve apoptoz sinyal yollarının aktivasyonunu kolaylaştırmaktadır. Özellikle ROS birikiminin, pro-apoptotik moleküllerin ekspresyonunu artırarak adipositlerin hücresel strese karşı toleransını azalttığı ve programlı hücre ölümüne yatkınlığı artırdığı bildirilmektedir. Bu mekanizmalar, obezite koşullarında gözlenen artmış adiposit apoptozunun temel belirleyicilerinden biri olarak değerlendirilmektedir (Maslov & ark., 2019).

ROS kaynaklı adiposit apoptozunun Foxo1/mTORC2 sinyal eksenini üzerinden düzenlenmektedir. Oksidatif stres koşullarında Foxo1 aktivasyonunun artmakta, buna bağlı olarak hücresel stres

yanıtların ve pro-apoptotik sinyallerin güçlendiği bildirilmektedir. Bu durum, adipositlerin metabolik yük ve stres koşulları altında hayatta kalma kapasitesini azaltmakta ve programlı hücre ölümünü kolaylaştırmaktadır (Cao & ark., 2017).

Oksidatif stres ile adiposit apoptozu arasındaki ilişki tek yönlü değildir; apoptozla kaybedilen adipositlerin yerine gelişen inflamatuvar yanıt ve makrofaj infiltrasyonu, oksidatif stres döngüsünü daha da derinleştirmektedir. Böylece oksidatif stres, adiposit apoptozunu tetikleyen bir faktör olmanın yanı sıra, apoptoz ve inflamasyon sonucunda daha da artan bir patolojik süreç hâline gelmektedir (Maslov & ark., 2019; Masschelin, Cox, Chernis, & Hartig, 2020).

Oksidatif stres ile adiposit apoptozu arasındaki ilişki tek yönlü olmayıp, karşılıklı etkileşimler içeren dinamik bir süreç olarak değerlendirilmektedir. Kronik oksidatif stres, adipositlerde mitokondriyal fonksiyonları olumsuz etkileyerek enerji üretiminde verimsizliğe yol açmakta ve hücrel stres yanıtlarını aktive etmektedir. Özetle; gelişen bu inflamatuvar ortam, oksidatif stresin daha da artmasına katkıda bulunmakta ve böylece adiposit apoptozu ile inflamasyon arasında kendini besleyen bir patolojik döngü oluşmaktadır. Bu koşullar altında hücre sağkalımını destekleyen sinyal yolları baskılanırken, pro-apoptotik mekanizmalar giderek baskın hâle gelmekte; özellikle uzun süreli reaktif oksijen türleri (ROS) maruziyeti, adipositlerin artan metabolik yükü tolere etme kapasitesini azaltarak programlı hücre ölümüne yatkınlığı artırmaktadır (Maslov & ark., 2019).

Özellikle yaşlanmaya eşlik eden redoks dengesizliği, adiposit yenilenmesini sınırlamakta ve sağlıklı adipogenez yerine hücrel kayıp ve doku disfonksiyonunu ön plana çıkarmaktadır. Bu süreç, adipoz dokuda hücre sayısının azalmasına, inflamatuvar yanıtların artmasına ve metabolik dengenin bozulmasına katkıda bulunmaktadır. Bu süreçte polifenollerin antioksidan özellikleri

sayesinde reaktif oksijen türlerini baskıladığı, mitokondriyal fonksiyonları desteklediği ve hücrel stres yanıtlarını modüle ettiği bildirilmiştir. Bu etkiler, adipositlerde oksidatif stres kaynaklı apoptozun azalmasına ve adipoz dokunun yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün korunmasına katkı sağlamaktadır. Dolayısıyla polifenoller, yaşlanma ve obezite koşullarında bozulan adipogenez–apoptoz dengesinin yeniden sağlanmasında önemli biyolojik düzenleyiciler olarak değerlendirilmektedir (Al-Regaiey & Ageing, 2024).

Mitokondriyal Disfonksiyon

Mitokondriyal disfonksiyon, yağ dokusu inflamasyonunun başlatıcı ve sürdürücü bir faktörü olup aynı zamanda adipositlerin hayatta kalma kapasitesini zayıflatan önemli bir stres kaynağıdır. Adiposit mitokondrilerinde oksidatif fosforilasyonun bozulması, enerji üretiminde azalma ve artmış reaktif oksijen türlerinin oluşumu ile sonuçlanmakta; bu durum hücrel stres yanıtlarını tetikleyerek adipositleri apoptoza yatkın hâle getirmektedir (Woo, Jang, Lee, Koh, & Lee, 2019).

Mitokondriyal disfonksiyonun adipositlerde mitokondri kaynaklı içsel apoptoz yollarını aktive etmekte özellikle enerji yetersizliği, artmış reaktif oksijen türleri üretimi ve mitokondriyal membran bütünlüğünün bozulmasının, hücre ölüm sinyallerini güçlendirdiği bilinmektedir (Vernochet & ark., 2014).

Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu yaşayan adipositlerde mitokondri kaynaklı stres sinyalleri artmakta ve bu sinyallerin apoptotik yolların aktivasyonu ile ilişkilendirilmektedir. Özellikle artmış ROS üretimi, mitokondriyal membran bütünlüğünün bozulmasına, sitokrom c salınımına ve buna bağlı olarak içsel (mitokondriyal) apoptoz yolunun aktive edilmesine zemin hazırlamaktadır. Bu süreç, adipositlerin fizyolojik adaptasyon

sınırlarını aşarak programlı hücre ölümüne yönelmesine neden olmaktadır (Woo & ark., 2019).

Bu süreç aynı zamanda, adiposit sayısında azalmaya ve yağ dokusunun bütüncül yapısının bozulmasına yol açarak lipodistrofik bir fenotipin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Adiposit kaybı, yağ dokusunun lipid depolama kapasitesini sınırlandırmakta ve lipidlerin ektopik dokularda birikmesine zemin hazırlamaktadır (Vernochet & ark., 2014).

Mitokondriyal disfonksiyona bağlı adiposit apoptozu, yağ dokusunda yalnızca hücre kaybı ile sınırlı kalmamakta; aynı zamanda ölü veya ölmekte olan adipositlerin çevresinde makrofaj birikimini tetikleyerek inflamatuvar bir mikroçevre oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Bu inflamatuvar yanıt, adiposit-makrofaj etkileşimini bozmakta ve kronik düşük dereceli inflamasyonun sürdürülmesini kolaylaştırmaktadır. Böylece mitokondriyal disfonksiyon, adiposit apoptozu üzerinden yağ dokusunda inflamasyonun başlaması ve ilerlemesinde merkezi bir mekanizma olarak öne çıkmaktadır (Woo & ark., 2019).

Endoplazmik Retikulum (ER) Stresi

Obeziteye bağlı aşırı besin alımı ve lipid yüklenmesi, adipositlerde protein katlanma kapasitesini aşarak ER homeostazının bozulmasına yol açmakta ve unfolded protein response (UPR) yolaklarını aktive etmektedir. UPR'nin kısa vadede adaptif bir yanıt sağlamasına karşın, ER stresinin kronikleşmesi durumunda hücresel stres sinyalleri baskın hâle gelmekte ve adipositlerde apoptoza eğilim artmaktadır (Kawasaki, Asada, Saito, Kanemoto, & Imaizumi, 2012).

ER stresi, özellikle aşırı beslenme ve lipid yükü altında kalan adipositlerde hücresel homeostazı bozarak programlı hücre ölümünü artırmaktadır. Çalışmada, yağ dokusunun önemli bir adipokini olan adiponektinin, ER stresine bağlı olarak gelişen adiposit apoptozunu

baskılayıcı bir rol üstlendiği gösterilmiştir. Moleküler düzeyde adiponektin, PPAR α sinyal yolunu aktive ederek stres yanıtında görev alan ATF2'nin transkripsiyonel düzenlenmesini sağlamaktadır. Bu mekanizma sayesinde ER stresine bağlı apoptotik sinyaller zayıflamakta ve adipositlerin hayatta kalması desteklenmektedir. Adiponektin varlığında, ER stres belirteçleri ve apoptotik yolların aktivasyonu azalırken, adipositlerin stres koşullarına karşı daha dirençli hâle geldiği gözlenmiştir. Bu bulgular, obezitede sıklıkla azalan adiponektin düzeylerinin, yağ dokusunda ER stresi kaynaklı adiposit apoptozunun artmasına katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (Liu & ark., 2016).

Obez yağ dokusunda ER stres belirteçlerinin (özellikle PERK, IRE1 α ve ATF6 yollarıyla ilişkili sinyallerin) belirgin şekilde arttığı belirlenen bir çalışmada; bu durumun pro-apoptotik sinyallerin aktive edilmesiyle ilişkili olduğu vurgulanmıştır. Uzamış ER stresi, CHOP gibi apoptotik transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu artırarak adipositlerin hayatta kalma kapasitesini azaltmakta ve hücre ölümünü tetikleyebilmektedir. Bu süreç, adiposit apoptozu ile birlikte yağ dokusunda makrofaj infiltrasyonunun artmasına ve inflamatuvar sitokin üretiminin (TNF- α , IL-6 gibi) güçlenmesine zemin hazırlamaktadır (Kawasaki & ark., 2012).

Dolayısıyla, ER stresine bağlı adiposit apoptozu, yalnızca hücresel düzeyde bir hasar mekanizması olarak değil, aynı zamanda yağ dokusunda kronik düşük dereceli inflamasyonun sürdürülmesinde kilit bir olay olarak değerlendirilmektedir. Bu inflamatuvar mikroçevre, adiposit-makrofaj etkileşimini bozarak insülin sinyal yollarını olumsuz etkilemekte ve obeziteye eşlik eden insülin direnci ve metabolik komplikasyonların gelişimine katkıda bulunmaktadır. Bu bulgular, ER stresinin adiposit apoptozu üzerinden yağ dokusu disfonksiyonunu derinleştiren merkezi bir mekanizma olduğunu göstermektedir (Kawasaki & ark., 2012).

İnflamatuvar Faktörler

Obeziteyle birlikte adipoz dokuda artan pro-inflamatuvar sitokinler, yalnızca sistemik inflamasyonun değil, aynı zamanda adipositlerin hücresel kaderinin yeniden şekillenmesinde de belirleyici rol oynamaktadır. Bu derlemede vurgulandığı üzere, özellikle IL-6, IL-1 β ve TNF- α gibi sitokinlerin obez adipoz dokuda kronik olarak yüksek düzeylerde bulunması, adipositlerin metabolik ve yapısal bütünlüğünü olumsuz etkilemektedir. Bu inflamatuvar mikroçevre, adipositlerde hücresel stres yanıtlarını artırarak hücre sağkalımını zayıflatmakta ve programlı hücre ölümüne yatkınlığı artırmaktadır. Pro-inflamatuvar sitokinlerin uzun süreli etkisi altında kalan adipositlerde, insülin sinyal yollarının baskılandığı, mitokondriyal fonksiyonların bozulduğu ve oksidatif stresin arttığı bildirilmektedir. Bu koşullar altında adipositler, metabolik yükü tolere edemez hâle gelmekte ve apoptoz sinyal yolları baskın hâle gelmektedir. Özellikle IL-1 β ve TNF- α 'nın aktive ettiği NF- κ B ve JNK gibi inflamasyon ilişkili sinyal mekanizmaları, hücre içi stresle birleşerek adiposit ölümü için elverişli bir ortam oluşturmaktadır (Wang, He, & reviews, 2018).

Yağ hücreleri tarafından üretilen tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) miktarının obezitede arttığı bilinmekte olup bu veriler yağ dokusundaki TNF- α mRNA ve protein düzeylerinin artması ve sitokinin dolaşımdaki konsantrasyonun yükselmesiyle de doğrulanmıştır. Ayrıca, TNF- α 'nın yağ dokusu üzerinde insülin direncini indüklemeye, leptin üretimini indüklemeye, lipolizi uyarmaya, lipogenezi baskılamaya, yağ hücresi farklılaşmasını bozma ve in vitroda ön yağ hücresi farklılaşmasını engelleme gibi farklı etkileri vardır. Bu etkilerin tümü, yağ hücresi hacmini ve sayısını azaltma eğilimindedir ve TNF- α 'nın yağ kütlesindeki artışı sınırlamada rol oynadığını düşündürmektedir. TNF- α 'nın insan yağ hücrelerinde apoptozu indükleyip indükleyemeyeceğini belirlemek ve böylece sitokinin obezitenin gelişimini veya derecesini sınırlamada rol

oynayabileceği başka bir mekanizmayı ortaya koymak amacıyla yapılan bir çalışmada; eksplant kültürlerinde yetiştirilen insan ön yağ hücreleri ve olgun yağ hücreleri, in vitro olarak 24 saate kadar değişen konsantrasyonlarda insan TNF- α 'ya maruz bırakılmış ve TNF- α 'nın hem ön yağ hücrelerinde hem de yağ hücrelerinde %5 ile %25 arasında değişen indekslerle apoptozu indüklediği belirlenmiştir (Prins & ark., 1997).

Kahverengi adipositler üzerinde yapılan bir çalışma, TNF- α 'nın farklılaşmış kahverengi yağ hücrelerinin apoptozunu indüklediğini ve bu etkinin muhtemelen esas olarak P55 TNF- α reseptör alt tipi tarafından ayarlandığını öne sürmektedir. Daha ileri bir çalışma, obez farelerde kahverengi adiposit apoptozunun TNF- α P55 reseptörünün yokluğunda azaldığını göstermiştir. TNF- α kaynaklı anti-adipogenez deneyi sırasında, β -katenin baskılanmış ön adipositlerde TNF- α kaynaklı DNA parçalanması önemli ölçüde artmıştır; bu da β -katenin sinyal yolunun TNF- α 'nın 3T3-L1 ön adiposit apoptozunun düzenlenmesinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. TNF- α ayrıca insan önadipositlerinde ve adipositlerinde apoptozu indükler ve artırır. Yakın zamanda yapılan bir çalışma, TNF- α 'nın, C/EBP ve PPAR- γ aracılı NF- κ B baskılanması sonucu apoptoz indüklenmesi yoluyla olgun adipositlerin sayısını azalttığını, ancak ön adipositlerin sayısını azaltmadığını göstermektedir (Y. Zhang & Huang, 2012).

İnsülin sinyal yolunun merkezi bileşenlerinden biri olan Akt (protein kinaz B), adipositlerde hücre sağkalımını destekleyen temel bir düzenleyici olarak görev yapmaktadır. Normal fizyolojik koşullarda insülin reseptörünün aktivasyonu ile başlatılan PI3K–Akt sinyal yolu, adipositlerde glukoz alımını, lipogenezi ve aynı zamanda anti-apoptotik mekanizmaları aktive eder. Akt'ın Ser473 ve Thr308 pozisyonlarındaki fosforilasyonu, hücre içinde pro-apoptotik faktörlerin baskılanmasını ve hücre yaşamını destekleyen sinyallerin sürdürülmesini sağlar.

Ancak inflamatuvar mikroçevrenin baskın olduğu obez adipoz dokuda, bu koruyucu mekanizmanın belirgin şekilde bozulduğu gösterilmiştir. Makrofaj kaynaklı inflamatuvar faktörlere maruz kalan insan adipositlerinde Akt fosforilasyonunun anlamlı derecede azaldığı ortaya konmuştur. Bu azalma, insülinin hücre sağkalımını destekleyici etkilerinin zayıfladığını ve adipositlerin apoptotik sinyallere karşı daha savunmasız hâle geldiğini göstermektedir (Wang & ark., 2018).

Hormonal ve Endokrin Faktörler

Leptin

Endokrin bir organ olarak yağ dokusu, yağ ağırlığının ve homeostazın düzenlenmesini etkileyen bol miktarda adipokin salgılar. Bu proteinler, obeziteyi tedavi etmek ve önlemek için ilaçlar için çok sayıda yağ dokusu hedefi oluşturur. 1994 yılında leptinin keşfedilmesinden bu yana, obezite karşıtı tedavide kullanılması için birçok girişimde bulunulmuştur. Leptin uygulamasının adiposit apoptozunu indükleyebileceğine dair kanıtlar vardır (Y. Zhang & Huang, 2012).

Leptin, 167 amino asitten oluşan, yapısal olarak sitokinlere benzer bir konfigürasyona sahip dört α -heliksten oluşan, iyi tanımlanmış bir obezite karşıtı hormondur. Esas olarak adipositler tarafından salgılanmasına rağmen, leptin hipotalamus, hipofiz bezi, plasenta, iskelet kası ve bağırsak epitel hücreleri gibi diğer dokularda da üretilir. Dolaşımdaki leptin seviyeleri vücut yağ içeriği ve adiposit büyüklüğü ile orantılıdır ve bu da onu vücuttaki enerji depolarının önemli bir göstergesi yapar. Leptin, öncelikle iştah ve enerji harcamasının düzenlenmesi yoluyla enerji homeostazında hayati bir rol oynar. Dahası, pankreatik β -hücrelerinde ifade edilen leptin reseptörleri, insülin duyarlılığını artırarak ve glikoz alımını teşvik ederek glikoz metabolizmasına katkıda bulunur ve insülin

salgılanmasının düzenlenmesinde bir rol oynadığını düşündürür (Shehab, Al-Mofarji, Mahdi, Ameen, & Al-Zubaidi, 2025).

Son araştırmalar, sıçanlarda beyin içine leptin verilmesinin yağ dokusunda hızlı bir azalmaya ve yalnızca bu dokuda apoptoz gelişimine yol açtığını göstermektedir. Bu etki, kontrol gruplarında veya leptin uygulanan hayvanların diğer dokularında görülmemiştir. Ayrıca periferden verilen leptinin farelerde adiposit apoptozunu tetikleyebildiği, ancak yüksek yağlı diyetin bu etkiye karşı duyarlılığı yalnızca erkeklerde azalttığı bildirilmiştir. Leptinin adipositlerde apoptozu doğrudan başlatmadığı, bu sürecin altta yatan mekanizmalarının ise henüz netleşmediği vurgulanmaktadır (Y. Zhang & Huang, 2012).

Bu mekanizmaları açıklamaya yönelik çalışmalar, leptinin yağ dokusunda VEGF artışı olmaksızın anjiyopoietin-2 ekspresyonunu artırarak endotel hücre apoptozunu uyardığını ortaya koymuştur. Ayrıca, leptinin merkezi uygulamasını takiben PPAR- γ mRNA düzeylerinde belirgin bir artış saptanmış ve bu durum PPAR- γ 'nin leptin aracılı adiposit apoptozunda rol oynayabileceğini düşündürmüştür. PPAR- γ agonistlerinin yağ hücresi farklılaşması ve apoptozu destekleyerek yağ hücresi hipertrofisini önlemesi de bu görüşü güçlendirmektedir. Sonuç olarak, leptin aracılı apoptoz yoluyla yağ dokusunun azaltılması, obezitenin önlenmesi ve tedavisinde umut verici bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir (Y. Zhang & Huang, 2012).

Adiponektin

Adiponektin, başlıca beyaz yağ dokusu adipositleri tarafından sentezlenen ve dolaşıma salınan, metabolik ve anti-inflamatuvar etkileri iyi tanımlanmış bir adipokindir. Plazmada yüksek konsantrasyonlarda bulunmasına karşın, obezite, insülin direnci ve tip 2 diyabet gibi metabolik bozukluklarda adiponektin düzeylerinin belirgin şekilde azaldığı bilinmektedir. Adiponektin,

başlıca AdipoR1 ve AdipoR2 reseptörleri aracılığıyla etkisini göstermekte; bu reseptörler üzerinden AMPK ve PPAR α gibi hücresel enerji dengesini ve stres yanıtlarını düzenleyen temel sinyal yollarını aktive etmektedir (Liu & ark., 2016).

Adiponektin, erken apoptotik hücre kalıntılarına bağlanarak bu yapıların makrofajlar tarafından tanınmasını ve uzaklaştırılmasını kolaylaştırdığı; böylece apoptotik hücrelerin sekonder nekroza ilerlemesini ve inflamatuvar içerik salınımını engellediği ortaya konulmuştur. Moleküler düzeyde adiponektinin bu etkisinin, makrofaj yüzeyinde bulunan kalretikülin reseptörüne bağımlı bir mekanizma üzerinden gerçekleştiği gösterilmiştir. Adiponektin, erken apoptotik hücre cisimcikleri ile makrofajlar arasında bir köprü görevi görerek kalretikülin aracılı tanımayı artırmakta ve apoptotik materyalin hızlı ve etkin şekilde temizlenmesini sağlamaktadır. Bu süreç, inflamasyonun baskılanması açısından kritik öneme sahiptir; zira apoptotik hücrelerin yeterince temizlenememesi, doku mikroçevresinde pro-inflamatuvar sinyallerin artmasına yol açmaktadır (Takemura & ark., 2007).

Kortizol

Kortizol, adrenal korteksten salgılanan ana glukokortikoid steroid hormondur ve vücudun stres ve enerji dengesini düzenleyen temel endokrin faktörlerden biridir. Hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) eksenini aracılığıyla salınan kortizol, hedef dokularda glukokortikoid reseptörlerine (GR) bağlanarak gen ekspresyonunu ve metabolik süreçleri etkiler. Glukokortikoid sinyalleşmesi özellikle adipoz dokuda önemli metabolik roller üstlenir: akut olarak lipolizi artırırken, kronik maruziyet metabolik homeostazı bozar, insülin direncine ve yağ dokusu disfonksiyonuna katkı sağlar (John, Marino, Sanchez, & Hinds Jr, 2016).

Glukokortikoidler, adipositlerin apoptoz yanıtlarını modüle edebilir; örneğin dexamethasone, insan adipositlerinde TNF- α ile

tetiklenen apoptotik gen ekspresyonu ve IL-1 β salınımını baskılayarak, TNF- α indüklü apoptozu önemli ölçüde azaltmıştır. Bu bulgu, glukokortikoidlerin yağ dokusundaki inflamatuvar stres sinyallerine karşı anti-apoptotik bir etki de gösterebildiğini ortaya koymaktadır (H. H. Zhang, Kumar, Barnett, & Eggo, 2001).

Glukokortikoidlerin apoptosis üzerindeki etkileri doku-özüdür; örneğin adiposit ve preadipositlerde dexamethasone, anti-apoptotik proteinlerin düzenlenmesini destekleyerek ve pro-apoptotik sinyalleri azaltarak, inflamasyonla ilişkili hücre ölümünü engelleyebilir. Bu durum, kortizol ve diğer glukokortikoidlerin adipoz doku homeostazı üzerindeki potansiyel rolünü vurgular (Gruver-Yates & Cidlowski, 2013).

Sonuç

Adipoz doku, uzun yıllar boyunca yalnızca enerji depolayan pasif bir yapı olarak değerlendirilmiş olsa da, güncel bulgular bu dokunun metabolik, endokrin ve immün fonksiyonlar açısından son derece dinamik bir sistem olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bölümde ele alınan çalışmalar, adiposit apoptozunun adipoz doku homeostazının korunmasında fizyolojik bir mekanizma olmasının ötesinde, obezite ve ilişkili metabolik bozuklukların gelişiminde belirleyici bir rol üstlendiğini göstermektedir. Obezite koşullarında artan metabolik yük, hipoksi, endoplazmik retikulum stresi, oksidatif stres, lipotoksisite ve inflamatuvar sinyaller, adipositleri programlı hücre ölümüne yatkın hâle getirmekte ve yağ dokusu bütünlüğünü derinlemesine etkilemektedir.

Artmış adiposit apoptozu ile tetiklenen inflamatuvar ortam, insülin sinyal yollarını olumsuz etkileyerek insülin direncinin derinleşmesine ve sistemik metabolik disfonksiyonun ilerlemesine katkıda bulunmaktadır. Böylece adiposit apoptozu, yağ dokusundaki lokal stres yanıtları ile diyabet, hepatik steatoz ve kardiyometabolik

hastalıklar gibi sistemik sonuçlar arasında kritik bir ara basamak olarak konumlanmaktadır.

Bu bağlamda adiponektin gibi adipokinlerin, adiposit sağkalımını destekleyen ve apoptotik süreçleri sınırlayan koruyucu rolleri özellikle dikkat çekmektedir. Adiponektinin ER stresine bağlı apoptotik yanıtları baskılaması ve apoptotik hücrelerin immünolojik olarak sessiz bir şekilde temizlenmesini kolaylaştırması, yağ dokusunda inflamasyonun kontrolü açısından önemli bir düzenleyici mekanizma sunmaktadır. Buna karşılık, obezitede adiponektin düzeylerinin azalması, apoptotik adipositlerin etkin biçimde uzaklaştırılamamasına ve inflamatuvar döngünün sürdürülmesine zemin hazırlamaktadır.

Sonuç olarak, adiposit apoptozu adipoz dokunun fizyolojik yenilenmesinin doğal bir parçası olmakla birlikte, metabolik stres koşullarında patolojik bir sürece dönüşebilmektedir. Bu dönüşüm, yağ dokusu disfonksiyonunun yanı sıra sistemik metabolik hastalıkların gelişiminde de belirleyici rol oynamaktadır. Adiposit apoptozunu tetikleyen ve düzenleyen moleküler mekanizmaların daha iyi anlaşılması, adipoz doku inflamasyonunun ve metabolik komplikasyonların hedeflenmesine yönelik yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesine önemli katkılar sağlayacaktır.

Kaynakça

Al-Regaiey, K. J. I., & Ageing. (2024). Crosstalk between adipogenesis and aging: Role of polyphenols in combating adipogenic-associated aging. *21*(1), 76.

Alkhoury, N., Gornicka, A., Berk, M. P., Thapaliya, S., Dixon, L. J., Kashyap, S., . . . Feldstein, A. E. (2010). Adipocyte apoptosis, a link between obesity, insulin resistance, and hepatic steatosis. *J Journal of Biological Chemistry*, *285*(5), 3428-3438.

Booth, A., Magnuson, A., Fouts, J., & Foster, M. (2015). Adipose tissue, obesity and adipokines: role in cancer promotion. *J Hormone molecular biology clinical investigation*, *21*(1), 57-74.

Cao, W., Li, M., Wu, T., Feng, F., Feng, T., Xu, Y., & Sun, C. (2017). α MSH prevents ROS-induced apoptosis by inhibiting Foxo1/mTORC2 in mice adipose tissue. *J Oncotarget*, *8*(25), 40872.

Chawla, A., Schwarz, E. J., Dimaculangan, D. D., & Lazar, M. A. (1994). Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma: adipose-predominant expression and induction early in adipocyte differentiation. *J Endocrinology*, *135*(2), 798-800.

Cinti, S., Mitchell, G., Barbatelli, G., Murano, I., Ceresi, E., Faloia, E., . . . Obin, M. S. (2005). Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J Journal of lipid research*, *46*(11), 2347-2355.

Della-Fera, M. A., Qian, H., & Baile, C. A. (2001). Adipocyte apoptosis in the regulation of body fat mass by leptin. *J Diabetes, obesity metabolism*, *3*(5).

Engin, A. (2024). Lipid storage, lipolysis, and lipotoxicity in obesity. *J Obesity Lipotoxicity*, 97-129.

Engin, A. B. (2024). Mechanism of Obesity-Related lipotoxicity and clinical perspective. *J Obesity Lipotoxicity*, 131-166.

Fischer-Posovszky, P., Keuper, M., Nagel, S., Hesse, D., Schürmann, A., Debatin, K.-M., . . . Wabitsch, M. (2011). Downregulation of FLIP by cycloheximide sensitizes human fat cells to CD95-induced apoptosis. *J Experimental cell research*, 317(15), 2200-2209.

Fischer-Posovszky, P., Kukulus, V., Zulet, M. A., Debatin, K.-M., & Wabitsch, M. (2007). Conjugated linoleic acids promote human fat cell apoptosis. *J Hormone metabolic research*, 39(03), 186-191.

Fischer-Posovszky, P., Tornqvist, H., Debatin, K.-M., & Wabitsch, M. (2004). Inhibition of death-receptor mediated apoptosis in human adipocytes by the insulin-like growth factor I (IGF-I)/IGF-I receptor autocrine circuit. *J Endocrinology*, 145(4), 1849-1859.

Gruver-Yates, A. L., & Cidlowski, J. (2013). Tissue-specific actions of glucocorticoids on apoptosis: a double-edged sword. *J Cells*, 2(2), 202-223.

Herold, C., Rennekampff, H. O., & Engeli, S. (2013). Apoptotic pathways in adipose tissue. *J Apoptosis*, 18(8), 911-916.

Imi, Y., Ogawa, W., & Hosooka, T. (2023). Insulin resistance in adipose tissue and metabolic diseases. *J Diabetology international*, 14(2), 119-124.

John, K., Marino, J. S., Sanchez, E. R., & Hinds Jr, T. D. (2016). The glucocorticoid receptor: cause of or cure for obesity? *J American Journal of Physiology-Endocrinology Metabolism*, 310(4), E249-E257.

Kawasaki, N., Asada, R., Saito, A., Kanemoto, S., & Imaizumi, K. (2012). Obesity-induced endoplasmic reticulum stress causes chronic inflammation in adipose tissue. *J Scientific reports*, 2(1), 799.

Keuper, M., Blüher, M., Schön, M. R., Möller, P., Dzyakanchuk, A., Amrein, K., . . . Fischer-Posovszky, P. (2011). An inflammatory micro-environment promotes human adipocyte apoptosis. *J Molecular cellular endocrinology*, 339(1-2), 105-113.

Koenen, T. B., Stienstra, R., Van Tits, L. J., De Graaf, J., Stalenhoef, A. F., Joosten, L. A., . . . Netea, M. G. (2011). Hyperglycemia activates caspase-1 and TXNIP-mediated IL-1 β transcription in human adipose tissue. *J Diabetes*, 60(2), 517-524.

Kusminski, C. M., Shetty, S., Orci, L., Unger, R. H., & Scherer, P. E. (2009). Diabetes and apoptosis: lipotoxicity. *J Apoptosis*, 14(12), 1484-1495.

Lee, M.-J., Wu, Y., & Fried, S. K. (2010). Adipose tissue remodeling in pathophysiology of obesity. *J Current Opinion in Clinical Nutrition Metabolic Care*, 13(4), 371-376.

Liu, Z., Gan, L., Wu, T., Feng, F., Luo, D., Gu, H., . . . Sun, C. (2016). Adiponectin reduces ER stress-induced apoptosis through PPAR α transcriptional regulation of ATF2 in mouse adipose. *J Cell death diseases*, 7(11), e2487-e2487.

Luk, C. T., Chan, C. K., Chiu, F., Shi, S. Y., Misra, P. S., Li, Y. Z., . . . Sivasubramaniyam, T. (2023). Dual role of caspase 8 in adipocyte apoptosis and metabolic inflammation. *J Diabetes*, 72(12), 1751-1765.

Maslov, L. N., Naryzhnaya, N. V., Boshchenko, A. A., Popov, S. V., Ivanov, V. V., & Oeltgen, P. R. (2019). Is oxidative stress of adipocytes a cause or a consequence of the metabolic syndrome? *J Journal of clinical translational endocrinology*, 15, 1-5.

Masschelin, P. M., Cox, A. R., Chernis, N., & Hartig, S. M. (2020). The impact of oxidative stress on adipose tissue energy balance. *J Frontiers in physiology*, 10, 1638.

Prins, J. B., Niesler, C. U., Winterford, C. M., Bright, N. A., Siddle, K., O'Rahilly, S., . . . Cameron, D. P. (1997). Tumor necrosis factor- α induces apoptosis of human adipose cells. *J Diabetes*, 46(12), 1939-1944.

Rayalam, S., Della-Fera, M. A., & Baile, C. A. (2008). Phytochemicals and regulation of the adipocyte life cycle. *J The Journal of nutritional biochemistry*, 19(11), 717-726.

Rodríguez, A., Gómez-Ambrosi, J., Catalán, V., Rotellar, F., Valentí, V., Silva, C., . . . Salvador, J. (2012). The ghrelin O-acyltransferase–ghrelin system reduces TNF- α -induced apoptosis and autophagy in human visceral adipocytes. *J Diabetologia*, 55(11), 3038-3050.

Röszer, T. (2021). Adipose tissue immunometabolism and apoptotic cell clearance. *J Cells*, 10(9), 2288.

Shehab, M. J., Al-Mofarji, S. T., Mahdi, B. M., Ameen, R. S., & Al-Zubaidi, M. M. (2025). The correlation between obesity and leptin signaling pathways. *J Cytokine*, 192, 156970.

Sorisky, A. (2017). Effect of high glucose levels on white adipose cells and adipokines—Fuel for the fire. *J International Journal of Molecular Sciences*, 18(5), 944.

Sorisky, A., Magun, R., & Gagnon, A. (2000). Adipose cell apoptosis: death in the energy depot. *J International Journal of Obesity*, 24(4), S3-S7.

Sun, K., Kusminski, C. M., & Scherer, P. E. (2011). Adipose tissue remodeling and obesity. *J The Journal of clinical investigation*, 121(6), 2094-2101.

Takemura, Y., Ouchi, N., Shibata, R., Aprahamian, T., Kirber, M. T., Summer, R. S., . . . Walsh, K. (2007). Adiponectin modulates inflammatory reactions via calreticulin receptor–dependent

clearance of early apoptotic bodies. *J The Journal of clinical investigation*, 117(2), 375-386.

Vernochet, C., Damilano, F., Mourier, A., Bezy, O., Mori, M. A., Smyth, G., . . . Kahn, C. R. (2014). Adipose tissue mitochondrial dysfunction triggers a lipodystrophic syndrome with insulin resistance, hepatosteatosis, and cardiovascular complications. *J The FASEB Journal*, 28(10), 4408.

Wang, T., He, C. J. C., & reviews, g. f. (2018). Pro-inflammatory cytokines: The link between obesity and osteoarthritis. 44, 38-50.

Woo, C.-Y., Jang, J. E., Lee, S. E., Koh, E. H., & Lee, K.-U. (2019). Mitochondrial dysfunction in adipocytes as a primary cause of adipose tissue inflammation. *J Diabetes metabolism journal*, 43(3), 247.

Yanumula, A., & Cusick, J. K. (2020). Biochemistry, extrinsic pathway of apoptosis. *StatPearls*.

Zhang, H. H., Kumar, S., Barnett, A. H., & Eggo, M. C. (2001). Dexamethasone inhibits tumor necrosis factor- α -induced apoptosis and interleukin-1 β release in human subcutaneous adipocytes and preadipocytes. *J The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 86(6), 2817-2825.

Zhang, Y., & Huang, C. (2012). Targeting adipocyte apoptosis: a novel strategy for obesity therapy. *J Biochemical biophysical research communications*, 417(1), 1-4.

BÖLÜM 3

KUPROPTOZDAN KUPROPLAZİYE: KANSER HÜCRELERİNDE BAKIRIN BİYOLOJİK PARADOKSU

EMİNE YAĞCI¹

Giriş

Kuproptoz aşırı bakır maruziyeti ve ardından gelen proteotoksik stres tarafından tetiklenen bir mitokondriyal hücre ölümü yolunu ifade eder (Tang, Kroemer, & Kang, 2024). Esas olarak enerji üretmek için ana metabolik yol olarak oksidatif fosforilasyonu kullanan hücrelerde meydana gelen yeni bir bakır kaynaklı hücre ölümü türüdür. Bakır, trikarboksilik asit döngüsünün lipoillenmiş proteinleriyle doğrudan ilişki kurarak bu lipoillenmiş proteinlerin disülfür bağına bağlı agregasyonuna, demir-kükürt küme proteinlerinin dengesizleşmesine ve bunun sonucunda proteotoksik strese yol açar (Xiong, Ling, Hao, Zhou, & Differentiation, 2023).

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Orcid: 0000-0003-2179-1318

Oksitlenmiş ve indirgenmiş formlarda bulunan temel bir eser element olan bakır, redoks kimyası, enzimatik reaksiyonlar, mitokondriyal solunum, demir metabolizması, otofaji ve bağışıklık modülasyonu dahil olmak üzere çeşitli biyolojik süreçlerde önemli rollere sahiptir. Bakır homeostazını korumak önemlidir çünkü hem eksikliği hem de fazlası zararlıdır. Düzensiz bakır metabolizmasının tümör oluşumunda ve kanser tedavisinde ikili bir rolü vardır. Özellikle, kuproplazi hiperplazi, metaplazi ve neoplazi dahil olmak üzere bakıra bağlı hücre büyümesini ve çoğalmasını tanımlar (Tang & ark., 2024).

İnsan vücudu tarafından az miktarda ihtiyaç duyulan temel eser elementler, çeşitli biyolojik süreçlerde önemli rollere sahiptir. Bakır, Cu (II) ve Cu (I) oksidasyon durumlarında bulunabilir, Cu (I) sitoplazmanın indirgeyici ortamında baskındır ve Cu (II) ile Cu (I) arasındaki bu dönüşüm, bakıra çok sayıda fizyolojik süreç için kritik öneme sahip içsel redoks özellikleri kazandırır. Bakır, hücresel solunum ve enerji üretimi için mitokondriyal elektron taşıma zincirinin bir bileşeni olarak gerekli olan sitokrom c oksidaz (kompleks IV) dahil olmak üzere önemli enzimler (kuproenzimler) için bir kofaktördür. Enzimatik rolünün yanı sıra, bakır aynı zamanda hücre büyümesini ve işlevini düzenler. Yetersiz bakır seviyeleri büyüme inhibisyonuna yol açarken, aşırı bakır maruziyeti oksidatif strese, hücre ölümüne ve doku hasarına neden olur (Tang & ark., 2024).

Bakır homeostazındaki işlev bozukluğu Parkinson (Rose, Hodak, & Bernholc, 2011), steatotik karaciğer hastalığı (MASLD) (Heffern & ark., 2016), diyabet (Atari-Hajipirloo & ark., 2016), obezite (H. Yang & ark., 2019) ve kanser (Tang & ark., 2024) gibi patolojilerde rol oynar.

Bakır konsantrasyonları meme, akciğer, sindirim sistemi, ağız, tiroid, safra kesesi, serviks, yumurtalık, böbrek ve prostat kanserinde tümör dokularında ve/veya kanda sıklıkla yükselir.

Bakırın kanserdeki rolü karmaşıktır ve hem tümörü teşvik edici hem de tümör baskılayıcı etkilere sahiptir. Bakır, kanser hücresi çoğalması için gereklidir, bu kavram 'kuproplazi' (yani, bakır bağımlı hiperplazi, metaplazi veya neoplazi) terimini tanımlar; ancak, aşırı bakır, özellikle 'kuproptoz' olarak tanımlanan bir mitokondriyal yol aracılığıyla hücre ölümüne neden olabilir. Bu nedenle, bakır iyonlarına sıkıca bağlanan geleneksel bakır şelatlayıcılara ek olarak, bakır iyonlarının hücre zarları boyunca taşınmasını kolaylaştıran bakır iyonoforlarının artması, antikanser tedavisinde hücre ölümünü indüklemek için yeni bir yaklaşım sunmaktadır (Tang & ark., 2024).

Özetle;

Bakır, hem normal fizyolojik süreçlerde hem de kanser de dahil olmak üzere patolojik süreçlerde önemli rolleri olan temel bir eser elementtir.

Kuproptoz, protein lipoilasyonu ve Fe-S küme proteinlerinin bozunmasıyla ilişkili proteotoksik stresin yol açtığı bir tür mitokondriyal hücre ölümüdür.

Ferrodoksin 1, mitokondride Cu (II)'yi Cu (I)'e indirgeyerek, aşırı protein lipoilasyonunu ve ardından mitokondriyal solunumla ilişkili agregasyonu kolaylaştırarak kuproptozda önemli bir role sahiptir.

Kuproplazi, bakırın hücre çoğalması ve büyümesini desteklemedeki rolünü tanımlamak için kullanılan bir terimdir.

Kuproplazi ve/veya kuproptozla ilişkili genler, tümör büyümesi, tedavi yanıtları ve nihayetinde hasta sonuçları üzerindeki etkileri nedeniyle kanserde potansiyel prognostik öneme sahiptir.

Hem bakır şelatörleri hem de bakır iyonoforları, sırasıyla kuproplaziyi baskılayarak ve kuproptozu indükleyerek tümör

büyümesini baskılayabilir ve kemoterapi, immünoterapi veya radyasyon tedavisini güçlendirebilir (Tang & ark., 2024).

Bakır Homeostazi ve Metabolizması

Hücre içi bakır nispeten kararlı bir proteine bağlı bakır formu ve daha değişken, çözünür, biyoyararlanımlı bir bakır formu olarak iki ayrı formda bulunur. Bu bakır formlarının düzenlenmesi, vücut çapında, dokuya özgü ve hücresel mekanizmalar dahil olmak üzere birden fazla düzeyde gerçekleşir (Tang & ark., 2024).

Bakır metabolizmasının temel süreçleri bağırsaktan emilim, vücutta taşınma, hücreler tarafından kullanım ve atılımı içerir. Besinlerle alınan bakır öncelikle ince bağırsakta, özellikle duodenum ve jejunumda emilir ve daha sonra diğer dokulara ve organlara, özellikle karaciğer yoluyla dağıtılır. Kan dolaşımındaki bakırın yaklaşık %95'i seruloplazmine (CP) bağlıdır. Fazla bakır karaciğerde işlenir ve bakır atılımının birincil yolu olan safraya entegre edilir. Cu (II) formundaki bakır, enterositler tarafından emilebilmesi için prostatın altı-transmembran epitel antijeni (STEAP) ailesinden metalloredüktazlar tarafından Cu (I)'e dönüştürülmelidir. Cu (I) enterositlere veya daha sonra diğer somatik hücrelere, özellikle çözünen taşıyıcı aile 31 üye 1 (SLC31A1) ve SLC31A2 tarafından taşınır. SLC31A1 eksikliğinde, bakır alımı telafi edici bir mekanizma olarak SLC11A2 aracılığıyla da yürütülebilir. Hücre sitoplazmasının içinde, bakır şaperon süperoksit dismutaz (CCS), süperoksit dismutaz 1 (SOD1) gibi belirli proteinlere bakır iletir. Bakırın mitokondriye taşınması, Cu (I)'i sitoplazmadan mitokondriyal protein sitokrom c oksidaz alt birimi 2'ye (MT-CO2) aktaran COX17 tarafından gerçekleştirilir. Bakır iyonları ayrıca, sitokrom c oksidaz montaj proteini COX16 ve sitokrom c oksidaz montaj faktörü 6 (COA6) tarafından kolaylaştırılan, iç mitokondriyal zardaki sitokrom c oksidaz 1 (SCO1) ve SCO2 sentezi yoluyla MT-CO2'ye aktarılabilir. COX17

ayrıca bakırı sitoplazmadan MT-CO1'e mitokondriyal sitokrom c oksidaz montaj proteini COX11 aracılığıyla taşır. Bakır ayrıca antioksidan 1 bakır şaperonu (ATOX1) tarafından trans-Golgi'ye taşınır. Bakır, CCS tarafından çekirdeğe iletebilir ve burada hipoksiye neden olan faktör 1 α (HIF1 α) gibi transkripsiyon faktörlerini aktive eder. Fazla hücre içi bakır iyonları iki önemli molekül tarafından izole edilebilir: metalotiyoninler (MT1 ve MT2) ve glutatyon (GSH), bunların seviyeleri NFE2 benzeri BZIP transkripsiyon faktörü 2 (NFE2L2, ayrıca NRF2 olarak da bilinir) tarafından düzenlenir. ATPaz ailesine ait olan bakır taşıyıcıları ATP7A ve ATP7B, hücrelerden bakır ihracatı için çok önemlidir. Hücre içi bakır seviyeleri yükseldiğinde, bu taşıyıcılar konformasyonel bir değişime uğrar ve ekzositoz yoluyla trans-Golgi ağından hücre zarına taşınır ve burada bakır iyonlarını hücre dışı boşluğa pompalarlar (Tang & ark., 2024). (**Şekil 1**)

Bakır Alımı ve Dağıtımı

Diyetle alınan Cu (II), prostatın altı-transmembran epitel antijeni (STEAP) ailesine ait hücre yüzey metalloredüktazları tarafından Cu (I)'e indirgenene kadar enterositler tarafından doğrudan emilemez. Cu(I) daha sonra bağırsak yolunu döşeyen hücrelere veya diğer somatik hücrelere, esas olarak SLC31A1 (CTR1) ve SLC31A2 (CTR2) tarafından taşınabilir. SLC11A2 (DMT1) tarafından bakır alımı da bildirilmiştir. Özellikle, bir pankanser profillemeye çalışmasından elde edilen veriler, SLC31A1'in mutasyonlarının ve anormal metilasyonunun 30'dan fazla farklı kanser türünde yaygın olaylar olduğunu göstermektedir. Hepatosit karsinomu (HCC) hücrelerinde, MYC ekspresyonu hücre içi bakır konsantrasyonlarıyla artar ve bu transkripsiyon faktörü, kuproplazi için daha fazla Cu(I) elde etmek amacıyla SLC31A1'in up-regülasyonu için gereklidir ve bu da fare modellerinde tümör büyümesine ve metastaza yol açar. Dahası, MASLD ile ilişkili siroz ve/veya HCC'li hastalarda genellikle

yüksek serum bakır seviyeleri vardır ve bu tür hastaların karaciğer dokularında hem MYC hem de SLC31A1 ekspresyonu, MASLD ile ilişkili sirozdan HCC'ye geçişle birlikte giderek artar (Qi & ark., 2023; Tang & ark., 2024).

Vücutta bakır dağılımı iki aşamada gerçekleşir. Besinsel bakır ilk olarak bağırsaktan karaciğere ve böbreklere, albumin ve transkupreine bağlı kan dolaşımı yoluyla taşınır. Daha sonra bakır, dolaşan taşıyıcı protein seruloplazmin yardımıyla karaciğerden diğer tüm dokulara dağıtılır. Kan dolaşımındaki bakırın yaklaşık %95'i kuproplaziye duyarlılığın önemli bir düzenleyicisi olan seruloplazmine bağlıdır. Örneğin, seruloplazmin gibi kuproenzimlerin bakır şelatlayıcı tetratiyomolibdat kullanılarak inhibisyonu, meme kanseri fare ksenograft modellerinde tümör büyümesini ve anjiyogenezi baskılar. Doğrudan deneysel kanıt bulunmamakla birlikte, seruloplazminin serum düzeyleri, diğer kuproplazi ile ilişkili genlerin analizleriyle birlikte, kolorektal kanserli (CRC) hastalarda kuproptoza karşı prognoz ve immünoterapötik yanıtın bir öngörücüsü olarak hizmet edebilir. Herhangi bir aşırı bakır karaciğerde metabolize edilir ve daha sonra safraya entegre edilir ve safra atılımı bakır eliminasyonunun birincil yolu olarak hizmet eder. İdrar ve serum seruloplazminindeki bakır düzeylerinin izlenmesinin yanı sıra, özel laboratuvar testleri biyopsi yoluyla elde edilen karaciğer doku örneklerinde bulunan bakır miktarını doğrudan ölçebilir. Bu, karaciğer bakır düzeyleri hakkında kesin bilgi sağlar ve Wilson hastalığı ve bakır aşırı yüklenme bozuklukları gibi durumların teşhisine yardımcı olabilir (Tang & ark., 2024). (Şekil 1)

Bakırın Taşınması ve Kullanımı

Bakır iyonları hücreye alındıktan sonra şaperon proteinleriyle kompleksler oluşturur ve farklı hücresel süreçleri düzenledikleri çeşitli hücresel bölmelere taşınır. Sitoplazmada, süperoksit dismutaz

(CCS) için bakır şaperonu, prostetik grubunda bakır gerektiren süperoksit dismutaz 1 (SOD1) de dahil olmak üzere belirli proteinlere bakır iyonları iletir. SOD1, süperoksit radikallerinin ($O_2^{\bullet-}$) oksijene (O_2) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüşümünü katalizleyerek hücreleri oksidatif strese korumaya yardımcı olur. SOD1'in iyi bilinen pro-sağkalım işlevleri nedeniyle bir kuproptoz baskılayıcısı olarak hareket etmesi beklenebilir. Ayrıca, CCS kuproenzimler MEK1 ve MEK2 ile etkileşime girer ve bakırı doğrudan onlara aktarır ve böylece bunların kinaz aktivitesini etkinleştirmede önemli bir rol oynar. MEK1 ve MEK2, aşağı akış onkogenik RAS ve RAF'ın sinyal yolu bileşenleridir ve bu nedenle kötü huylu dönüşümün ve ilaç direncinin önemli araçlarıdır (Grasso & ark., 2021; Tang & ark., 2024; Xiaowen Wang & ark., 2021).

Bakır mitokondriyal solunum yoluyla enerji üretimi için gerekli bir yardımcı faktördür. Bakırın mitokondriye taşınması esas olarak sitokrom c oksidaz bakır şaperonu COX17'ye dayanır. Bu, Cu(I)'i sitoplazmadan iç mitokondriyal zardaki iki proteine, sitokrom c oksidaz 1 (SCO1) ve SCO2 sentezine aktarır ve böylece bakırın mitokondriyal olarak kodlanan sitokrom c oksidaz alt birimi 2'ye (MT-CO2; COX2) eklenmesini kolaylaştırır. Başka bir yol, sitoplazmadan MT-CO1'e (COX1) COX17 aracılı bakır taşınmasını içerir. Hem MT-CO1 hem de MT-CO2'nin redoks-aktif bakır merkezleri, kompleks IV'ün elektron transfer sürecinde önemli rollere sahiptir ve dolayısıyla nihayetinde ATP üretimine katkıda bulunur. Özellikle, yüksek COA6 ekspresyonu, akciğer adenokarsinomu olan hastalarda artmış oksidatif fosforilasyon ve kötü bir prognoz ile ilişkilidir (Tang & ark., 2024).

Bakır iyonları antioksidan 1 bakır şaperonu (ATOX1) tarafından trans-Golgi ağına taşınabilir. ATOX1 sitoplazmada Cu(I)'e bağlanır ve bunu Golgi ağında ATP7A ve ATP7B gibi bakır taşıyan ATPazlara iletir. HER2 tarafından yönlendirilen hücre hareketliliği ve göçüne bağlı bir protein olan hücre hareketliliği

aracısı 1 (MEMO1), Cu(I) ile bir koordinasyon kompleksi oluşturabilir ve bunu ATOX1'e aktarabilir, böylece meme kanseri hücrelerinde bakır aracılı redoks aktivitesini ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini inhibe eder. Yükseltilmiş hücre içi bakır seviyelerine yanıt olarak, ATP7A ve ATP7B, ekzositoz yoluyla hücreden bakır dışarı akışını kolaylaştırmak için lizozomlar veya melanozomlar gibi Golgi sonrası bölgelere taşınır. ATOX1'in yukarı düzenlenmesi genotoksik ilaçlara karşı direnç kazandırır ve meme kanseri hücrelerinin göçünü, sırasıyla DNA hasarı kontrol noktası 1 (MDC1) aracısının bakır bağımlı transkripsiyonel yukarı düzenlenmesi ve protein-lizin 6-oksidad (LOX) proenziminin aktivasyonu yoluyla teşvik eder (Tang & ark., 2024).

Hem CCS hem de ATOX1 bakırı çekirdeğe taşıyabilir ve burada çeşitli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunda rol oynar. Örneğin, insan HCC hücrelerinde hipoksi kaynaklı gen ifadesi, HIF1 α 'nın transkripsiyonel ko-aktivatör protein p300'e ve hedef genlerdeki hipoksi tepki elemanlarına bağlanmasını kolaylaştıran CCS ve bakıra bağlıdır. ATOX1 bakırı çekirdeğe taşır ve endotel hücreleri ve kanser hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinde bakır bağımlı bir transkripsiyon faktörü olarak işlev görür. CCS veya ATOX1'in inhibisyonu, bakırın yanlış lokalizasyonuna veya bakır bağımlı efektör proteinlerin işlevinin bozulmasına yol açar ve böylece çeşitli in vitro ve fare modellerinde kuproplazi ve tümör büyümesini baskılar (Tang & ark., 2024). (**Şekil 1**)

Bakır Sekestrasyonu

Bağlanmamış kararsız bakır iyonları ROS üretebilir veya hücrelerde sitotoksik etkiler gösterebilir. Bu süreç, hücre içi Cu(I)'i hapseden proteinler tarafından engellenir. Örneğin, aşırı hücre içi bakır iyonları metalotiyoneinler ve glutatyon (GSH) gibi iki temel antioksidan peptit türü tarafından şelatlanabilir (Tang & ark., 2024).

Metallotiyoneinler, çok çeşitli organizmalarda ifade edilen küçük, sistein açısından zengin protein ailesidir. Bu proteinler, özellikle çinko, bakır ve kadmiyum gibi ağır metaller olmak üzere belirli metal iyonlarına bağlanma ve seviyelerini düzenleme yetenekleriyle bilinirler. Metallotiyonein 1 (MT1) ve MT2, SLC31A1 tarafından taşınan önemli miktarda bakır iyonunu şelatlamının yanı sıra, farelerde trans-Golgi kompleksinden ATP7A'nın taşınmasını da engeller. Oksidatif strese karşı hücrel bir savunma mekanizması olarak, aşırı bakırın varlığı, ana antioksidan transkripsiyon faktörü NFE2 benzeri BZIP transkripsiyon faktörü 2'yi (NFE2L2) aktive ederek MT1 ve MT2 ekspresyonunu indükleyebilir (Fujie & ark., 2016; Tang & ark., 2024). (Şekil 1)

Bakır Eksportu

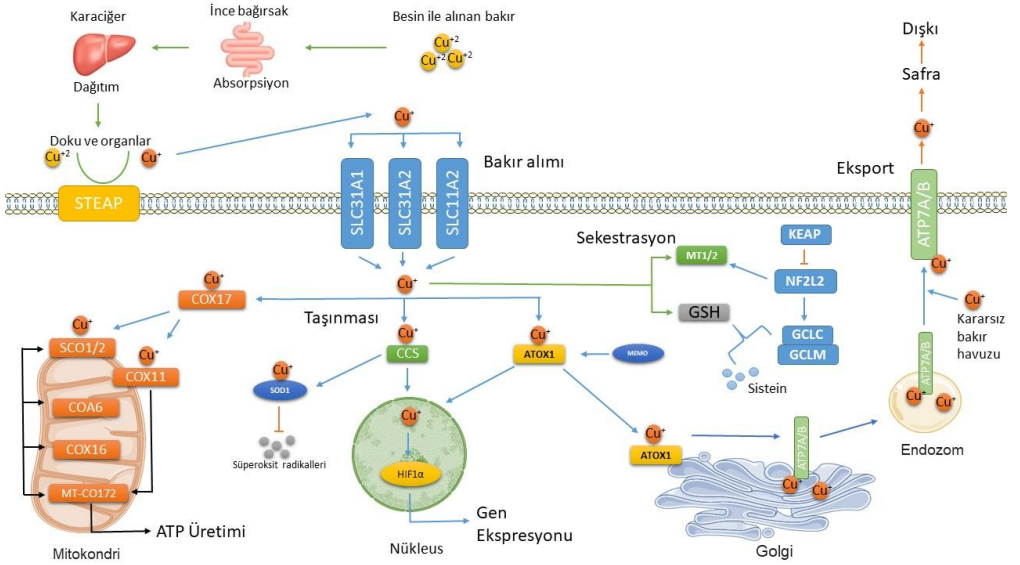
Hücrelerden bakır atılımı, fazla bakır iyonlarını aktif olarak uzaklaştıran taşıma proteinlerine dayanır. İnsanlarda, ATP7A ve ATP7B temel bakır taşıyıcılarıdır ve bu P tipi ATPaz ailesi bakır iyon pompaları hem kuproplazi hem de kuproptozda temel rollere sahiptir. ATP7A çoğu dokuda ifade edilirken, karaciğerdeki ATP7B sistemik bakır seviyelerinin homeostatik düzenlenmesi için gereklidir. ATP7A ve ATP7B'deki işlev kaybı mutasyonları sırasıyla Menkes hastalığı ve Wilson hastalığı olarak bilinen bakır taşıma bozukluklarına neden olur (Tang & ark., 2024).

Normal fizyolojik koşullar altında, ATP7A ve ATP7B trans-golgi ağının zarları içinde yer alır ve burada sitoplazmik N-terminal bölgelerindeki altı bakır bağlayıcı alan aracılığıyla şaperonlar tarafından iletilen bakır iyonlarına bağlanırlar. Hücre içi bakır seviyeleri arttığında, bu taşıyıcılar bakır kaynaklı bir konformasyonel değişime ve trans-Golgi ağından hücre zarına doğru ekzositotik translokasyona uğrarlar, böylece bakır taşıma aktiviteleri artar. Hücre zarında, ATP7A ve ATP7B bakır iyonlarını hücre dışı

boşluğa salar, bu işlem bakır iyonlarını konsantrasyon gradyanlarına karşı taşımak için ATP tarafından sağlanan enerjiyi gerektirir. Bu nedenle, ATP7A ve ATP7B'nin aktivitesi, hücre içi bakır seviyeleri ve metalotiyoneinler gibi bakır bağlayıcı proteinler tarafından ve ayrıca bu taşıyıcıların trafiğini ve aktivitesini düzenleyen çeşitli sinyal yolları tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir (Tang & ark., 2024).

Yüksek ATP7A ekspresyon seviyeleri *KRAS*^{G12V} mutant CRC hücrelerini aşırı bakırın neden olduğu toksisiteden (yani kuproptoz) korur ve kuproplaziyi destekler. İnsan yumurtalık kanseri hücrelerinde ATP7B'nin up-regülasyonu, lizozomal gen transkripsiyonunun ve otofajik akışın ana düzenleyicisi olan transkripsiyon faktörü EB'ye (TFEB) bağlıdır. Özellikle, P tipi ATPaz ailesinin ilaç dışarı akışında önemli bir rolü vardır ve artan ATP7A ve ATP7B ekspresyonu insan yumurtalık ve karaciğer kanseri hücrelerinde sisplatin ve karboplatin gibi platin bazlı kemoterapötiklere karşı dirençe katkıda bulunur. Bu bulgular, ATP7A ve ATP7B'nin hem bakıra bağımlı hem de bakırdan bağımsız mekanizmaları içeren tümör oluşumu ve tedaviye dirençte ikili bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (Tang & ark., 2024). **(Şekil 1)**

Şekil 1. Bakır metabolizmasını düzenleyen yollar



(Tang & ark., 2024 referans alınarak tarafımızdan çizilmiştir)

Kuproplazi Aracılı Tümör Büyümesi

Kuproplazi terimi, hiperplazi, metaplazi ve neoplazi bağlamında hücre büyümesini ve çoğalmasını desteklemede bakırın rolünü tanımlamak için türetilmiştir (Ge & ark., 2022). Bu rol, bakırın bir dizi enzimatik aktivite ve karmaşık sinyal yolları üzerindeki etkilerini içerir. Birçok kanser türünde, SLC31A1 ekspresyonu bakır alımını artırmak için yukarı düzenlenir. Dahası, *KRAS*^{G12V}-mutant CRC hücreleri, tümör büyümesini de destekleyen bakır alımını artırmak için alternatif bir mekanizma olarak makropinositozu, hücre dışı ortamdan çeşitli moleküllerin seçici olmayan alımını sağlayan düzenlenmiş bir endositotik süreç, kullanabilir (Aubert & ark., 2020).

Klinik öncesi ve klinik kanıtlar, yüksek bakır düzeylerinin karsinogenezi başlatma ve desteklemede bir rol oynadığını desteklemektedir. Örneğin, kamu içme suyu kaynaklarında izin

verilen maksimum düzey olan 20 µM bakıra kronik maruz kalma, pankreas adacık hücre karsinomunun çok aşamalı bir tümör oluşumu modeli olan Rip1Tag2 farelerinde tümör büyümesini hızlandırır (Ishida, Andreux, Poitry-Yamate, Auwerx, & Hanahan, 2013).

Bakıra bağlı tümör gelişimi birkaç mekanizma ile açıklanabilir:

Artan enerji kaynağı: Kanser hücreleri enerji taleplerini karşılamak için kötü huylu olmayan hücrelere göre daha yüksek bakır seviyelerine ihtiyaç duyar. Bakırın MT-CO1 ve MT-CO2 için bir kofaktör görevi gördüğü göz önüne alındığında, bu metal özellikle hızla bölünen kanser hücreleri için hayati önem taşıyan süreçler olan mitokondriyal solunum ve ATP üretimi için gereklidir.

Tümör Baskılayıcı protein fonksiyonunun bozulması: Bakır p53'te bulunan çinkoyu yerinden oynatabilir, böylece bu proteinin anormal katlanmasına ve tümör baskılayıcı aktivitesinin kaybına yol açabilir, TP53'te mutasyon olasılığını artırabilir. Wilson hastalığı olan hastalardan alınan karaciğer örneklerinde TP53 mutasyonlarının yaygınlığında artış gözlemlenmiştir. Bakır ayrıca, p53 de dahil olmak üzere birden fazla proteinin ifadesine aracılık eden bir bozunma yolu olan ubiquitin-proteazom sistemini (UPS) aktive edebilir. Tersine, yüksek bakır seviyeleri proteazom fonksiyonunu bozarak protein bozunmasını bozabilir ve yanlış katlanmış proteinlerin birikmesine neden olabilir. Bu bozulma, p53 de dahil olmak üzere protein homeostazını etkiler. Örneğin, bakır-pirolidin ditiyokarbamat kompleksi (CuPDTC) kullanılarak hücre içi bakır seviyelerinin artırılması, p53'ün stabilizasyonu yoluyla sisplatin dirençli insan nöroblastoma hücre hatlarında hücre döngüsü durmasını ve apoptozu indükler. Bakırın UPS yolundaki ikili rolünün daha iyi anlaşılması, bu yolun kanser tedavisi için hedeflenmesi ve yeni kanser karşıtı stratejilerin geliştirilmesi konusunda fikir verebilir.

Onkojenik sinyal yollarının aktivasyonu: Bakır, tümör büyümesi için kritik öneme sahip olan RAS–RAF–MEK–ERK ve PI3K–AKT–mTOR kaskadları da dahil olmak üzere çeşitli sinyal yollarında yer alır. Daha önce belirtildiği gibi bakır, MEK1 ve MEK2'nin bir kofaktörü olarak hareket ederek ERK1 ve ERK2'yi fosforile etme yeteneklerini artırır. PI3K'nın aşağı akışında hareket eden bir 'ana' kinaz olan 3-fosfoinozidit bağımlı protein kinaz 1'in (PDPK1) H117 ve H203'ünde bakır bağlanması, AKT ile etkileşimini ve aktivasyonunu teşvik ederek farelerde meme kanseri tümör oluşumunu kolaylaştırır.

Otofaji uyarımı: Bakır, otofaji mekanizmasını teşvik edebilir ve böylece *KRAS*^{G12D} mutant akciğer adenokarsinomu modelinde gösterildiği gibi kanser hücrelerinin hayatta kalmasını, büyümesini ve çoğalmasını destekleyebilir. Mekanik olarak, bakır, fagoforun, başlangıçtaki otofagozomal öncü çift zarlı yapının oluşumunu başlatmaktan sorumlu olan Unc51 benzeri otofaji aktive edici kinaz 1 (ULK1) ve ULK2 için bir kofaktör görevi görür. Ek olarak, sitoplazmik bakır şaperonu ATOX1, bakırı hücre çekirdeğindeki sistein açısından zengin protein 2'ye (CRIP2) aktarabilir; Bakır bağlanması, UPS aracılı bozunmasını teşvik eden CRIP2'de konformasyonel bir değişikliğe neden olur ve bu da insan H1299 büyük hücreli akciğer karsinomu hücre hattında ROS üretiminin artmasına ve ardından mikrotübül ilişkili protein 1A/1B hafif zincir 3 (MAP1LC3) bağımlı otofagozom oluşumuna neden olur.

Mekanik olarak, bakır HIF1 α 'nın ko-aktivatörü p300'e ve çok sayıda gendeki hedef motiflerine bağlanmasını artırır. Ayrıca, bakır aracılı oksidatif stres, sıçanların karaciğer ve akciğer dokularında ve insan hepatoma hücre hattı HepG2'de NF- κ B yolunu, NF- κ B'nin önemli bir baskılayıcısı olan I κ B proteininin bozunmasını teşvik ederek aktive eder. Bu etkiler, sırayla, hipoksik tümör mikroçevresinde anjiyogenezde (VEGF ve FGF2), inflamasyonda

(IL6 ve IL1) ve metastazda (SNAI1) yer alan genlerin transkripsiyonel yukarı regülasyonuna yol açar.

Pozitif geri bildirim döngüsünün bir parçası olarak, IL-17 gibi proinflamatuvar sitokinler, STEAP4 ekspresyonunun transkripsiyonel indüksiyonu yoluyla bakır alımını artırabilir ve bu da NF- κ B aktivitesini sürdüren ve proapoptotik kaspaz 3'ü baskılayan E3 ligaz X'e bağlı apoptoz inhibitörünün (XIAP) aktivasyonu ile sonuçlanır. Bu nedenle, proinflamatuvar ve pro-sağkalım işlevlerini baskılamak için STEAP4–XIAP aracılı NF- κ B aktivasyonunu hedeflemek, CRC'nin fare modellerinde bakır aracılı tümör oluşumunu ve kemoterapiye direnci bloke edebilir.

Metastazı kolaylaştırma: LOX ve LOX benzeri (LOXL) proteinler, meme ve akciğer kanserleri ve osteosarkom dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde tümör invazivliği ve metastazında rol oynayan bakır enzimleridir. LOX ve LOXL, lizin kalıntılarının aldehit türevleri olan allizine dönüşümünü katalize ederek, hücre dışı matris proteinlerinde çapraz bağlar oluşturur, böylece protein tirozin kinaz 2 (PTK2-FAK) sinyal yolunu aktive eder ve kanser hücresi çoğalmasını, göçünü, invazivliğini ve metastazını teşvik eden transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna yol açar (X. Chen & ark., 2023).

Makrofaj aracılı inflamasyonu şiddetlendirme: Cu (II)'nin mitokondride birikimi, NAD⁺ ile uyarılan metabolik ve epigenetik programlama yoluyla inflamatuvar bir fenotipe sahip makrofajlar oluşturabilir (Solier & ark., 2023). Makrofaj aracılı inflamasyonun tümör destekleyici önemli etkileri olduğu düşünüldüğünde, bu hedeflenebilir bakır aracılı yolun kanser ilerlemesine katkıda bulunduğu tahmin edilebilir.

Bağırsıklık kaçınmasını destekleme: Yükselmiş bakır seviyeleri, muhtemelen sinyal dönüştürücüsü ve transkripsiyon aktivatörü 3 (STAT3) bağımlı transkripsiyonun yukarı regülasyonu

ve/veya UPS aracılı PD-L1 degradasyonunun baskılanması yoluyla bağışıklık kontrol noktası proteini PD-L1'in ekspresyonunu artırarak antitümör bağışıklığı bozabilir ve böylece kanser bağışıklık kaçınmasına katkıda bulunabilir. HCC'li fare modellerinde, kanser hücreleri tarafından salgılanan LOXL4'ün ekzosomal alımı, bakır şelatörleri tarafından inhibe edilebilen, interferon aracılı, STAT3'e bağımlı bir mekanizma yoluyla makrofajlarda PD-L1 ekspresyonunu indükler ve bu da CD8⁺ T hücrelerinin fonksiyonel baskılanmasına ve tümör büyümesinin hızlanmasına yol açar. Bu nedenle, bakır bağımlı LOXL aktivasyonunu hedefleme stratejisi, tümör mikroçevresinde immün kontrol noktası inhibitörü (ICI) tedavisini artırmak ve immünosupresyonu hafifletmek için umut verici bir terapötik yol sunmaktadır.

Bu bulgular bakırın kanserin belirgin özelliklerini yönlendirmedeki çok yönlü rolünü göstermektedir, buna sürekli hücre çoğalması, anjiyogenez, metastaz, değişmiş metabolizma, tümör teşvik eden inflamasyon ve bağışıklık kaçışı dahildir. Bu nedenle, kuproplazi, bu karmaşık ağın önemli bileşenleri olan belirli moleküler yollara yönelik gelecekteki araştırmalar yoluyla çözülmesi gereken bakırın çok yönlü etkilerinin sonucudur.

Kuproptoz Aracılı Tümör Baskılanması

Bakırın oksidatif stresi düzenlemede ikili, zıt rolleri vardır. Bir yandan, SOD1 için bir kofaktör olarak bakır, süperoksit radikallerini nötralize etmede önemli bir rol oynar. Öte yandan, aşırı bakır birikimi, Fenton reaksiyonu yoluyla oldukça reaktif hidroksil radikalleri üreterek oksidatif strese yol açabilir ve bu da hücre hasarına ve hatta hücre ölümüne neden olabilir. Son araştırmalar, mitokondriyal bakır tarafından indüklenen benzersiz bir düzenlenmiş hücre ölümü biçimi olan kuproptozun varlığını ortaya koymuştur (Tsvetkov & ark., 2022). Bu paradigma, bakır kaynaklı hücre ölümünün yalnızca ROS üretimine atfedildiği yönündeki

geleneksel görüşe meydan okumaktadır. Bakır iyonoforu elesklomol, Cu (II)'yi mitokondriye bağlar ve taşır; burada Cu(II), mitokondrideki Fe-S kümesi içeren ferredoksin ailesinin bir üyesi olan ferredoksin 1 (FDX1) tarafından Cu (I)'e indirgenir. Elesklomolün bu aktivitesi bakırın sitotoksik etkilerini destekler ve lipofobik antioksidanlar (N- asetilsistein gibi) ve apoptoz inhibitörleri (Z-VAD-FMK ve Boc-D-FMK) bakır kaynaklı bu azalan insan akciğer kanseri hücre hattının canlılığını kurtarmada başarısız olur. Kuproptoz, esas olarak çeşitli kanser hücre hatlarında FDX1 aracılı mitokondriyal proteotoksik stres tarafından yönlendirilir. İnsan hücre hatlarında SLC31A1'in aşırı ekspresyonu veya Wilson hastalığının bir fare modelinde Atp7b delesyonu sonrasında artan CuCl_2 alımından kaynaklanan doğal bakır stresi de kuproptozu tetikleyebilir (Tsvetkov & ark., 2022).

Kuproptozda, mitokondriyal bakır, lipoillenmeyi takiben proteinlere doğrudan bağlanabilir ve lipoillenmiş proteinlerin agregasyonuna yol açabilir. Özellikle, bakır bağlanması lipoillenmiş enzim dihidrolipoamid S-asetiltransferazın (DLAT) agregasyonuna neden olur ve bu enzim pirüvat dehidrogenaz kompleksinin temel bir bileşeni olarak mitokondriyal trikarboksilik asit (TCA) döngüsünü düzenler. Yüksek Cu(I) seviyeleri ayrıca Fe-S küme proteinlerini dengesizleştirir ve bunlar hem protein lipoillenmesi hem de mitokondrideki elektron taşıma reaksiyonları için çok önemlidir (Tang & ark., 2024).

Kanser hücreleri, ara metabolitler ve enerji üretmek için oksidatif fosforilasyona göre glikolizi (Warburg etkisi) tercih eder ve böylece kuproptozu karşı da direnç kazanabilir. İlginç bir şekilde, tümör baskılayıcı p53, glikolizi inhibe eden ve kanser hücrelerinde oksidatif fosforilasyona doğru metabolik bir değişimi yönlendiren önemli bir metabolik düzenleyicidir. Ek olarak, p53, kuproptotik yolun iki kritik bileşeni olan demir-kükürt kümelerinin ve bakır şelatörü glutatyonun biyogenezi düzenler ve bu tümör

baskılayıcının kuproptozda rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Xiong & ark., 2023).

Bakır, enzimler için temel bir yardımcı faktördür ve oksidatif fosforilasyon, reaktif oksijen türleri (ROS) detoksifikasyonu, demir homeostazı, bağ dokusu çapraz bağlanması ve sinyal iletimi dahil olmak üzere hemen hemen tüm organizmalarda biyolojik süreçler için gereklidir. Bakır eksikliği çok çeşitli genetik, nörolojik, kardiyovasküler ve metabolik hastalıklarla ilişkilidir. Ancak evrimsel olarak korunan bir homeostatik mekanizma tarafından korunan eşiğin ötesinde, bakır iyonları toksik hale gelebilir. Elesklomol ve disülfiram gibi çeşitli bakır iyonoforlarının, yüksek oksidatif fosforilasyon oranlarına sahip hücrelerde bakıra bağlı düzenlenmiş hücre ölümü (RCD), yani kuproptozu teşvik ettiği bulunmuştur (Xiong & ark., 2023). Ancak, Tsvetkov ve arkadaşları bakırın kuproptozu indüklemek için doğrudan trikarboksilik asit (TCA) döngüsünün lipoile edilmiş proteinlerini hedef aldığını ortaya koyana kadar aşırı bakırın hücre ölümünü nasıl indüklediği belirsizliğini korumuştur (Tsvetkov & ark., 2022).

Kuproptozun mekanik temelini açıklamak için genom çapında CRISPR-Cas9 taraması yapılmıştır (Tsvetkov & ark., 2022). Kuproptoz düzenleyicileri olarak yedi gen tanımlanmıştır. Bunlar arasında FDX1, Cu (II)'yi daha sitotoksik bir bakır formu olan Cu (I)'e dönüştüren bir redüktazı kodlar. LIPT1, LIAS ve DLD, lipoik asit yolunun bileşenlerini kodlar. DLAT, PDHA1 ve PDHB, pirüvat dehidrogenaz (PDH) kompleksinin lipoillenmiş bileşenlerini kodlar; bu da lipoik asit yolunun ve protein lipoilasyonunun kuproptoz için önemli olabileceğini düşündürmektedir. Bakırın doğrudan lipoillenmiş TCA döngüsü proteinlerine bağlandığı ve bu proteinlerin disülfür bağına bağlı agregasyonuna ve demir-kükürt (Fe-S) küme proteinlerinin bozunmasına yol açtığı bulunmuştur. FDX1 tükenmesi protein lipoilasyonunu tamamen kaybetmeye, hücresel solunumda belirgin azalmaya, pirüvat ve α -ketoglutaratın

birikmesine, süksinatın azalmasına ve Fe-S küme proteinlerinin stabilizasyonuna yol açtığı, FDX1'in kuproptozun merkezi düzenleyicisi olduğu düşünülmektedir. Özetle, aşırı bakır lipoillenmiş TCA döngüsü proteinlerinin agregasyonunu ve Fe-S küme proteinlerinin dengesizleşmesini teşvik eder, bunların ikisine de FDX1 aracılık eder ve sonuç olarak kuproptozu yol açar.

Bakır ithalatçısı SLC31A1 ve ihracatçısı ATP7B'yi kodlayan genleri in vitro ve in vivo olarak deneysel olarak manipüle ederek hücre içi bakır dalgalanmasının kuproptoz üzerindeki etkileri araştırılmıştır (Tsvetkov & ark., 2022). Hücrelerde SLC31A1'in aşırı ekspresyonu, lipoillenmiş proteinlerin CuCl_2 ile indüklenen agregasyonuna ve Fe-S küme proteinlerinin bozunmasına karşı duyarlılıklarını önemli ölçüde artırmıştır. Aynı şekilde, SLC31A1 ile duyarlılaştırılmış, bakırla indüklenen hücre ölümü, bakır şelatörleri ve FDX1 veya LIAS tükenmesi ile kısmen kurtarılmıştır. Bu in vitro bulgular, Atp7b düşüşü olan bir Wilson hastalığı fare modelinde de doğrulanmıştır. Atp7b $^{+/-}$ ve yabanıl tip farelerin karaciğerleriyle karşılaştırıldığında, Atp7b $^{-/-}$ farelerin karaciğerlerinde lipoillenmiş ve Fe-S küme proteinlerinde önemli kayıplar görülmüştür ve bu durum hücre içi bakır birikiminin in vivo olarak kuproptozu yol açtığını göstermektedir. Bu bulgular kanserde kuproptoz ve bakır homeostazının önemli rol oynadığını gösterir (Tsvetkov & ark., 2022).

Kanserde Kuproptoz Mekanizması

Kuproptozun başlıca morfolojik özellikleri, apoptozu benzer şekilde, mitokondriyal büzülme, plazma membran yırtılması, endoplazmik retikulum hasarı, kromatin yırtılmasıdır (Xidi Wang, Zhou, Liu, & Si, 2023). Kuproptoz, TCA döngüsü içindeki bakır ve lipoillenmiş elementler arasında doğrudan bağlanma yoluyla gerçekleşir ve bu da lipoillenmiş proteinlerin agregasyonunu ve Fe-S küme proteinlerinin kaybını indükleyerek proteotoksik stresi ve

nihayetinde kuproptozu tetikler (Liu, Lin, Yan, Xu, & Yang, 2024). Bakır seviyeleri tümör dokularında ve serumda dikkate değer bir artış göstermiştir (S. Yang & ark., 2023).

Bakır stresi kuproptoz ile birlikte ve ROS stresi, oksidatif hasar, hücre döngüsü durmasına neden olur. Tümör hücrelerinde kuproptoz düzenleyicilerinin altında yatan bir geri bildirim sitoproteksiyon mekanizması belirlenmiştir. Bakır uygulandığı zaman, glutamin taşıyıcı aktivasyonu ve Fe-S küme protein tükenmesi ayrı ayrı destekleyici faktörler ve kuproptoz sonuçlarıdır. Bakır kaybıyla GSH kuproptoz olayını bloke edebilir, glutamin taşıyıcı aktivasyonunu kurtarabilir, Fe-S küme protein tükenmesini önleyebilir ve ayrıca tümör hücrelerini apoptoza, protein bozulmasına, oksidatif hasara karşı koruyabilir. Ayrıca, bir bakır iyonoforu olan kurkumin, kolorektal kanser (CRC) hücrelerinde lipid, RNA, NAD(P)H gibi metabolik süreçlere aracılık eder ve pozitif kuproptoz medyatörlerini artırır (Liu & ark., 2024).

Kuproptoz biyobelirteçleri arasında siklin-bağımlı kinaz inhibitörü 2A (CDKN2A), FDX1, dihidrolipoamid dehidrogenaz (DLD), dihidrolipoamid S-asetiltransferaz (DLAT), lipoik asit sentaz (LIAS), lipoiltransferaz 1 (LIPT1), glutaminaz (GLS), tetikleyici transpozonlu element türevi 1 (TIGD1), metal düzenleyici transkripsiyon faktörü 1 (MTF1), pirüvat dehidrogenaz A1 (PDHA1), pirüvat dehidrogenaz beta alt birimi (PDHB) yer almaktadır (Liu & ark., 2024).

Bu bölümde kuproptoz biyobelirteçlerinin kanser üzerindeki etkileri ele alınacaktır:

CDKN2A

CDKN2A çoğu kanser hastasında aşırı ifade edilir ve istenmeyen prognostik sonuçlarla ilişkilidir (Zhang, Wang, Zhou, & Zhang, 2023). Tüm kuproptozla ilişkili genler arasında CDKN2A,

pan-kanserde en yüksek mutasyon sıklığına (~%49) sahiptir (Qin & ark., 2023). Deneyisel olarak, CDKN2A, HCC hücrelerinin proliferatif ve göç edici kapasitelerini kolaylaştırır ve kuproptozunu zayıflatır (Zhao & ark., 2023). CDKN2A, kanser ilerlemesini zayıflatan plikamisinin bir hedefidir (Fan, Dong, Li, & Li, 2023).

FDX1

Feredoksinler (FDX'ler), farklı biyolojik olaylarda elektronları taşıyan büyük bir Fe-S protein ailesini içerir. İnsan mitokondrileri, sitokrom P450 tabanlı steroid dönüşümünde ve Fe-S proteinlerinin biyogeneğinde ortak bir etkiye sahip olan iki FDX izoformu olan FDX1/2'den oluşur (Schulz & ark., 2023).

FDX1, elesklomol-Cu²⁺'nin Cu⁺'ya indirgenmesini katalize eder ve ardından mitokondriye salınır. FDX1, elesklomol kaynaklı bakır bağımlı hücre ölümünü kurtarabilir. Ek olarak, elesklomol bazlı bakırın mitokondriyal olmayan bakır proteinlerine transferi, FDX1 kaybında bile devam eder ve bakır salınımının alternatif bir mekanizmasını gösterir. Elesklomol aracılığıyla bakır taşınması mekanizması, klinik olarak kullanılan diğer bakır taşıma bileşiklerinden farklıdır. İnsan kanser hücrelerinde, FDX1 ekspresyonu prognoz, tümör bağışıklığı ve ilaç duyarlılığı ile ilişkilidir ve bu, kaspaz 3 ve 7'nin aktivasyonu olmadan elesklomol tarafından zayıflatılır (Tsvetkov & ark., 2019; L. Yang & ark., 2022; Zulkifli & ark., 2023).

DLD

DLD, karbonhidrat, lipid veya amino asit oksidasyonuna katılan dört multienzim kompleksinin ortak bir bileşenidir. DLD, baş ve boyun tümörlerinde sistin yoksunluğu veya import baskılanması aracılı ferroptotik hücre ölümüne aracılık eder. Sistin yoksunluğu ve glutaminoliz, mitokondriyal α -ketoglutarat dehidrogenaz (KGDH) aktivitesini, membran potansiyelini ve Fe²⁺ seviyelerini yükseltir, bu

da lipid peroksidasyon birikimine ve ferroptotik hücre ölümüne neden olan Fenton reaksiyonuna yol açar. DLD baskılanması, lipid peroksidasyonunu ve Fe^{2+} birikimini azaltmayı mümkün kılar ve ferroptotik hücre ölümünün inhibisyonuna yol açar. UVA ile baskılanan DLD, oksidatif stresi uyandırmanın yanı sıra enerji metabolizmasını etkileyerek melanom gelişimini zayıflatır (Shin, Lee, You, Kim, & Roh, 2020; H.-S. Yang & ark., 2001; Yumnam & ark., 2021).

DLAT

Pirüvat dehidrogenaz (PDH) kompleksinin çekirdek bir elemanı olan DLAT, pirüvatın asetil-CoA'ya dönüşümünü katalize eden gerekli bir enzimdir. Bu şekilde sentezlenen asetil-CoA, enerji üretmek için TCA döngüsünde kullanılabilir. DLAT, mitokondri içindeki tamamlayıcı bileşen 1, q alt bileşen bağlayıcı protein (C1QBP) ile etkileşime girerek hücresel enerji metabolizmasını düzenler. Etkili bakır iyonoforu elesklomol, HCC'de bakır bağımlı bir şekilde kuproptozu uyarabilir. Bu arada, seçici Cu^{2+} şelatör amonyum tetratiyomolibdat ve DLAT ekspresyonunun bastırılması kuproptozu etkili bir şekilde zayıflatır. DLAT'ın bastırılması, çeşitli kanser türlerinde kötü huylu davranışları ve tümör büyümesini zayıflatmayı mümkün kılar. Kuproptoz hariç, DLAT HCC hücrelerinin pro-sağkalım otofajisini destekler (R. Chen & ark., 2016; Fang & ark., 2023; Gao & ark., 2023; Q. Yang, Zeng, & Liu, 2023).

LIAS

HIF'ler metabolizmaya, anjiyogeneze, redoks homeostazına katılan genlerin aktivasyonu yoluyla zayıf oksijen mikroçevresine adaptasyonu sağlar. Mutant LIAS, HIF1 α 'yı hidroksilasyon olmayan bir formla stabilize edebilir. Mutant LIAS'ın bozulması, L-2-hidroksiglutarat oluşumunu kolaylaştırır ve HIF α protil hidroksilazların (PHD'ler) ve TET 2-oksoglutarat bağımlı

dioksijenazların aktivitesini baskılar. PHD aktivitesi, lipoik asitlerin senteziyle homozigot germ hattı mutasyonları olan hastalarda down-regüle olur ve bu da aktive edilmiş HIF1 ile sonuçlanır. Bu nedenle, LIAS mutantları epigenetik modülasyon ve karsinogeneizde rol oynar. LIAS, doğrudan FDX1'e bağlanabilir ve böylece hücreysel protein lipoilasyonu kontrol edebilir (Burr & ark., 2016; Dreishpoon & ark., 2023).

LIPT1

LIPT1 enzimi, TCA döngüsüyle ilişkili 2-ketoasit dehidrojenazları aktive etmeyi sağlar. LIPT1'in baskılanması, HCC hücrelerinin proliferasyonunu, invazyonunu ve migrasyonunu azaltır. LIPT1, çeşitli kanserlerde immün kontrol noktası PD-L1 ile pozitif olarak ilişkilidir (Liu & ark., 2024).

GLS

GLS, glutamin metabolizması için önemli bir enzim olup, insan kanserlerinde yaygın olarak rol oynadığı kanıtlanmıştır. Örneğin, süksinil-koenzim A (CoA) sentaz ADP oluşturan alt birim β (SUCLA2) ile eşleştirilmiş GLS süksinilasyon ve aktivitesinin modülasyonu, kanser hücrelerinin oksidatif stresini önleyebilir. GLS tarafından tetiklenen glutamin katabolizması, redoks durumunu, kök hücre özelliklerini ve ATG5 temelli otofajiyi modüle ederek prostat karsinomunun radyosensitivitesine neden olur. Ayrıca, GLS, HCC hücrelerinin proliferasyonuna ve göçüne katkıda bulunur ve kuproptozunu azaltır (Liu & ark., 2024; Zhao & ark., 2023).

TIGD1

Bir onkogen olan TIGD1, çeşitli kanser türlerinde yukarı regülasyon göstermektedir. Aşırı ekspresyonu, oral skuamöz hücreli karsinomun (OSCC) ilerlemesini kolaylaştırır ve dendritik hücre olgunlaşmasını ve aktivasyonunu engeller. TIGD1'in baskılanması,

CRC hücrelerinde bakır seviyelerini yükselterek kuproptoza neden olabilir (Qiao, Zhu, Song, Shang, & Guo, 2023; Wu & ark., 2023).

MTF1

MTF1, temel bir metal algılayıcı transkripsiyon faktörü olup, korunmuş DNA dizisi motiflerine, yani metal yanıt elementlerine bağlanmayı sağlar. MTF1 bağlanma bölgesindeki tek bir nükleotid, metale özgü transkripsiyon aktivasyonunu kontrol etmeyi sağlar. MTF1, hem metal fazlalığına hem de eksikliğine duyarlıdır ve embriyonik gelişim için gerekli olan oksidatif veya hipoksik strese karşı hücreleri korur. Hücrelerde enerji üretimi için mitokondrideki sitokrom c oksidaza bakır yüklenmesi gereklidir. Mitokondriyal Cu^{+} taşıyıcı PiC2 (SLC25A3), MTF1'in bir hedefidir (Liu & ark., 2024).

Kanser Tedavisi için Kuproptoz İndüksiyonu

Şu anda kanser tedavisinde kullanılan bakır bazlı ajanlar öncelikle bakır şelatörleri, iyonoforlar, bakır içeren ajanları kapsamaktadır. Bakır iyonoforları, lipofilik bakır bağlayıcı moleküller olup, hücre içi bakır seviyelerini artırmak ve ardından kuproptozu tetiklemek için Cu^{2+} 'yi hücrelere iletirler. Bakır şelatörleri bu olayları tersine çevirmeyi sağlar. Elesklomol, disülfiram (DSF), pirition, klorokin, NSC-319726 gibi birkaç ajan bakır iyonoforu olarak görev yapar. Elesklomol, FDX1 $\alpha 2/\alpha 3$ heliksine ve $\beta 5$ zincirine özel olarak bağlanarak FDX1 aracılığıyla indüklenen Fe-S kümesi biyosentezini baskılar (Liu & ark., 2024).

Tümör hücreleri oksidatif stres gibi olumsuz mikro ortama uyum sağlamak için bakır metabolizmalarını yeniden programlarlar. Elesklomol, ATP7A'yı parçalayarak kolorektal kanserde bakır aracılı ferroptotik hücre ölümünü indüklemeyi sağlar. Bakır homeostazının üveal melanomda GNAQ/11'e özgü bir zayıflık olduğu kanıtlanmıştır ve elesklomol, GNAQ/11 mutasyonu olan üveal

melanomu seçici olarak hedefleyebilmektedir. Ayrıca, elesklomol, bakırı demir ithalat mekanizmasına ileterek hücre içi ve mitokondriyal demir içeriğini artırır (Liu & ark., 2024).

Bakırı bağlamak ve bakırın biyoyararlanımını azaltmak için D-penisilamin, tetratıyomolibdat (TM) ve tetraetilenpentamin (TEPA) gibi birkaç bakır şelatlayıcı kullanılır. Oksidatif fosforilasyon inhibitörleri, protein stres yanıtının inhibisyonu yoluyla kuproptozu baskılamayı sağlar. Kuproptoz, elektron transfer zinciri komplekslerinin blokajı (rotenon, marital, parricide, antimisin A) ve mitokondriyal piruvat alım inhibitörü (UK5099) uygulanmasının ardından azaltılabilir (Liu & ark., 2024).

Sonuç olarak; kuproptoz, kanser hücresi büyümesini ve metastazını engellemek için kuproptozu tetikleyen yenilikçi bakırdan bağımsız nanoplatform tasarlamak için yeni bir bakış açısı sunmaktadır. Platin bazlı kemoterapi, çeşitli kanser türlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, ekzojen platin, tümör hücrelerinde GSH artışına neden olarak ciddi yan etkilere ve ilaç direncine yol açabilir; bu da kanser gelişiminin ve nüksünün yönetimini engeller. Antikanser bakır organik kompleksleri, sistemik toksik etkileri düşük ve ilaç direncini hafifleten platin bazlı kemoterapinin yerini alabilecek uygun bir aday olabilir (Liu & ark., 2024).

Kaynakça

Atari-Hajipirloo, S., Valizadeh, N., Khadem-Ansari, M. H., Rasmi, Y., & Kheradmand, F. (2016). Altered concentrations of copper, zinc, and iron are associated with increased levels of glycated hemoglobin in patients with type 2 diabetes mellitus and their first-degree relatives. *International journal of endocrinology and metabolism*, 14(2), e33273.

Aubert, L., Nandagopal, N., Steinhart, Z., Lavoie, G., Nourreddine, S., Berman, J., & ark. (2020). Copper bioavailability is a KRAS-specific vulnerability in colorectal cancer. *Nature communications*, 11(1), 3701.

Burr, S. P., Costa, A. S., Grice, G. L., Timms, R. T., Lobb, I. T., Freisinger, P., & ark. (2016). Mitochondrial protein lipoylation and the 2-oxoglutarate dehydrogenase complex controls HIF1 α stability in aerobic conditions. *Cell metabolism*, 24(5), 740-752.

Chen, R., Xiao, M., Gao, H., Chen, Y., Li, Y., Liu, Y., & Zhang, N. (2016). Identification of a novel mitochondrial interacting protein of C1QBP using subcellular fractionation coupled with CoIP-MS. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 408(6), 1557-1564.

Chen, X., Clement, M., Hicks, M. J., Sarkar, P., Gaber, M. W., & Man, T. K. (2023). LOX upregulates FAK phosphorylation to promote metastasis in osteosarcoma. *Genes & Diseases*, 10(1), 254-266.

Dreishpoon, M. B., Bick, N. R., Petrova, B., Warui, D. M., Cameron, A., Booker, S. J., & ark. (2023). FDX1 regulates cellular protein lipoylation through direct binding to LIAS. *Journal of Biological Chemistry*, 299(9).

Fan, K., Dong, Y., Li, T., & Li, Y. (2023). Cuproptosis-associated CDKN2A is targeted by plicamycin to regulate the

microenvironment in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Frontiers in Genetics*, 13, 1036408.

Fang, Z., Wang, W., Liu, Y., Hua, J., Liang, C., Liu, J., & ark. (2023). Cuproptosis-related gene DLAT as a novel biomarker correlated with prognosis, chemoresistance, and immune infiltration in pancreatic adenocarcinoma: a preliminary study based on bioinformatics analysis. *Current Oncology*, 30(3), 2997-3019.

Fujie, T., Segawa, Y., Yoshida, E., Kimura, T., Fujiwara, Y., Yamamoto, C., & ark. (2016). Induction of metallothionein isoforms by copper diethyldithiocarbamate in cultured vascular endothelial cells. *The Journal of Toxicological Sciences*, 41(2), 225-232.

Gao, F., Yuan, Y., Ding, Y., Li, P. Y., Chang, Y., & He, X. X. (2023). DLAT as a cuproptosis promoter and a molecular target of elesclomol in hepatocellular carcinoma. *Current Medical Science*, 43(3), 526-538.

Ge, E. J., Bush, A. I., Casini, A., Cobine, P. A., Cross, J. R., DeNicola, G. M., & ark. (2022). Connecting copper and cancer: from transition metal signalling to metalloplasia. *Nature Reviews Cancer*, 22(2), 102-113.

Grasso, M., Bond, G. J., Kim, Y. J., Boyd, S., Dzebo, M. M., Valenzuela, S., & ark. (2021). The copper chaperone CCS facilitates copper binding to MEK1/2 to promote kinase activation. *Journal of Biological Chemistry*, 297(6).

Heffern, M. C., Park, H. M., Au-Yeung, H. Y., Van de Bittner, G. C., Ackerman, C. M., Stahl, A., & Chang, C. J. (2016). In vivo bioluminescence imaging reveals copper deficiency in a murine model of nonalcoholic fatty liver disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(50), 14219-14224.

Ishida, S., Andreux, P., Poitry-Yamate, C., Auwerx, J., & Hanahan, D. (2013). Bioavailable copper modulates oxidative phosphorylation and growth of tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(48), 19507-19512.

Liu, W. Q., Lin, W. R., Yan, L., Xu, W. H., & Yang, J. (2024). Copper homeostasis and cuproptosis in cancer immunity and therapy. *Immunological Reviews*, 321(1), 211-227.

Qi, Y., Yao, Q., Li, X., Li, X., Zhang, W., & Qu, P. (2023). Cuproptosis-related gene SLC31A1: prognosis values and potential biological functions in cancer. *Scientific reports*, 13(1), 17790.

Qiao, X., Zhu, L., Song, R., Shang, C., & Guo, Y. (2023). A novel oncogene trigger transposable element derived-1 promotes oral squamous cell carcinoma progression via evoking immune inhibition. *Molecular Carcinogenesis*, 62(8), 1213-1227.

Qin, Y., Liu, Y., Xiang, X., Long, X., Chen, Z., Huang, X., & ark. (2023). Cuproptosis correlates with immunosuppressive tumor microenvironment based on pan-cancer multiomics and single-cell sequencing analysis. *Molecular cancer*, 22(1), 59.

Rose, F., Hodak, M., & Bernholc, J. (2011). Mechanism of copper (II)-induced misfolding of Parkinson's disease protein. *Scientific reports*, 1(1), 11.

Schulz, V., Basu, S., Freibert, S. A., Webert, H., Boss, L., Mühlenhoff, U., & ark. (2023). Functional spectrum and specificity of mitochondrial ferredoxins FDX1 and FDX2. *Nature chemical biology*, 19(2), 206-217.

Shin, D., Lee, J., You, J. H., Kim, D., & Roh, J. L. (2020). Dihydrolipoamide dehydrogenase regulates cystine deprivation-induced ferroptosis in head and neck cancer. *Redox biology*, 30, 101418.

Solier, S., Müller, S., Cañeque, T., Versini, A., Mansart, A., Sindikubwabo, F., & ark. (2023). A druggable copper-signalling pathway that drives inflammation. *Nature*, 617(7960), 386-394.

Tang, D., Kroemer, G., & Kang, R. (2024). Targeting cuproplasia and cuproptosis in cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 21(5), 370-388.

Tsvetkov, P., Coy, S., Petrova, B., Dreishpoon, M., Verma, A., Abdusamad, M., & ark. (2022). Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins. *Science*, 375(6586), 1254-1261.

Tsvetkov, P., Detappe, A., Cai, K., Keys, H. R., Brune, Z., Ying, W., & ark. (2019). Mitochondrial metabolism promotes adaptation to proteotoxic stress. *Nature chemical biology*, 15(7), 681-689.

Wang, X., Zhang, H., Sapio, R., Yang, J., Wong, J., Zhang, X., & ark. (2021). SOD1 regulates ribosome biogenesis in KRAS mutant non-small cell lung cancer. *Nature communications*, 12(1), 2259.

Wang, X., Zhou, M., Liu, Y., & Si, Z. (2023). Cope with copper: From copper linked mechanisms to copper-based clinical cancer therapies. *Cancer letters*, 561, 216157.

Wu, Z., Lin, C., Zhang, F., Lu, Z., Wang, Y., Liu, Y., & ark. (2023). TIGD1 function as a potential cuproptosis regulator following a novel cuproptosis-related gene risk signature in colorectal cancer. *Cancers*, 15(8), 2286.

Xiong, C., Ling, H., Hao, Q., & Zhou, X. (2023). Cuproptosis: p53-regulated metabolic cell death?. *Cell Death & Differentiation*, 30(4), 876-884.

Yang, H. S., Morris, J. I., Wang, Q., Korotchkina, L. G., Kwon, M., & Patel, M. S. (2001). Human dihydrolipoamide dehydrogenase gene transcription is mediated by cAMP-response element-like site

and TACGAC direct repeat. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 33(9), 902-913.

Yang, H. S., Morris, J. I., Wang, Q., Korotchkina, L. G., Kwon, M., & Patel, M. S. (2001). Human dihydrolipoamide dehydrogenase gene transcription is mediated by cAMP-response element-like site and TACGAC direct repeat. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 33(9), 902-913.

Yang, L., Zhang, Y., Wang, Y., Jiang, P., Liu, F., & Feng, N. (2022). Ferredoxin 1 is a cuproptosis-key gene responsible for tumor immunity and drug sensitivity: a pan-cancer analysis. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 938134.

Yang, Q., Zeng, S., & Liu, W. (2023). Roles of cuproptosis-related gene DLAT in various cancers: a bioinformatic analysis and preliminary verification on pro-survival autophagy. *PeerJ*, 11, e15019.

Yang, S., Song, Y., Hu, Y., Chen, H., Yang, D., & Song, X. (2023). Multifaceted roles of copper ions in anticancer nanomedicine. *Advanced healthcare materials*, 12(23), 2300410.

Yumnam, S., Kang, M. C., Oh, S. H., Kwon, H. C., Kim, J. C., Jung, E. S., & ark. (2021). Downregulation of dihydrolipoyl dehydrogenase by UVA suppresses melanoma progression via triggering oxidative stress and altering energy metabolism. *Free Radical Biology and Medicine*, 162, 77-87.

Zhang, D., Wang, T., Zhou, Y., & Zhang, X. (2023). Comprehensive analyses of cuproptosis-related gene CDKN2A on prognosis and immunologic therapy in human tumors. *Medicine*, 102(14), e33468.

Zhao, S., Chen, S., Liu, W., Wei, S., Wu, X., Cui, D., & ark. (2023). Integrated machine learning and bioinformatic analyses used to construct a copper-induced cell death-related classifier for prognosis

and immunotherapeutic response of hepatocellular carcinoma patients. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1188725.

Zulkifli, M., Spelbring, A. N., Zhang, Y., Soma, S., Chen, S., Li, L., & ark. (2023). FDX1-dependent and independent mechanisms of elesclomol-mediated intracellular copper delivery. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(10), e2216722120.

BÖLÜM 4

PROGRAMMING CELL DEATH AND CANCER TREATMENT WITH GENE TRANSFECTION

CANDAN ALTUNTAŞ¹
GÖKHAN DURUKSU²
YUSUFHAN YAZIR³

Introduction

In light of the uncontrolled proliferation of cancer cells, the induction of cell death is regarded as a treatment modality against these cells. Therapeutic methods, such as chemotherapy and radiotherapy, have been developed to eradicate malignant cells and have been associated with cancer treatment for a considerable period. However, these treatments also result in the death of numerous normal cells and the occurrence of undesirable side effects. The present study hypothesizes that focusing on cancer cells, as opposed to the induction of regional damage and the consequent

¹Dr. Kocaeli University, Stem Cell and Gene Therapies Research and Practice, Orcid: 0000-0002-2551-1849

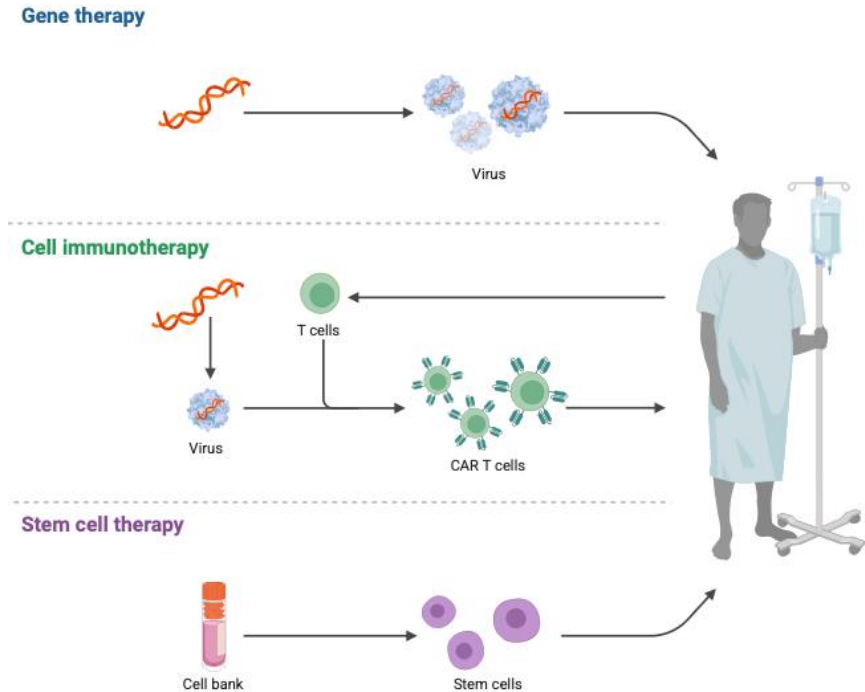
²Assoc. Prof. Dr., Kocaeli University, Department of Stem Cell, Institute of Health Sciences, Orcid: 0000-0002-3830-2384

³Prof. Dr., Kocaeli University, Department of Histology and Embriyology, School of Medicine, Orcid: 0000-0002-8472-0261

reduction in cell viability, will prevent the occurrence of these deleterious side effects. When cells become non-viable, they are exposed to cell death mechanisms that have evolved for this purpose and are programmed to activate across species, a process termed "apoptosis" (DI, 1994: 777; Moyer, Tanaka & Cheng, 2025: 303). This type of cell death differs from necrosis and autophagy and occurs as a result of a physiological suicide process rather than a hostile environment.

In a global context, gene therapy is defined as a treatment approach that involves the correction of a genetic defect by the addition of a normal/healthy sequence of a defective or missing gene, thereby correcting the underlying disorder (Friedmann, 1992: 93). The early focus of gene therapy on rare diseases caused by harmful monogenic (single-gene) defects is well documented (Vrellaku et al., 2024: 3220). Nevertheless, advancements in this domain have demonstrated that gene therapy techniques may possess a broad spectrum of potential applications (Wirth, Parker & Ylä-Herttuala, 2013: 162). Although the traditional way of treating cancer involves the use of certain chemotherapeutic agents, the development of chemoresistance during the therapeutic process is one of the main factors causing many forms of chemotherapy to fail (Gottesman, 2002: 615). Despite the remarkably accomplishments in recent years in the field of target identification strategies, cancer gene therapy remains in its infancy (Das et al., 2015: 259). Notwithstanding the local administration of these recombinant viruses, the potential exists for their dissemination to other tissues, a phenomenon attributable to the advanced vascular structure characteristic of tumor tissue. This, in turn, can lead to undesirable outcomes.

Figure 1. Cell and gene therapies (created with BioRender.com).



1.1 Solving Problems in Viral Gene Transfer

A significant benefit of viral vector-based gene therapies is its capacity to target specific cells, a process contingent on the substantial interaction between viral proteins and host receptors that are serotype-specific. However, the efficacy of viral delivery can vary for several reasons. In addition to immune system responses, the treatment approach may be a contributing factor. The absence or

reduction of receptor expression in the target cell or tissue has been demonstrated to result in a concomitant reduction in gene transfer efficiency. It is important to note that cancer cells do not constitute a homogeneous population; consequently, targeting a single cellular surface receptor may not be the most effective strategy. From this standpoint, the following approaches may be considered:

- Eliminating the adverse effects of the innate immune response to viral vectors is an important approach. As tissue-specific macrophages and Kupffer cells are critical in reducing this effect, the choice of molecules injected with viral vectors, such as polyethylene glycol (PEG) and similar synthetic polypeptides, can be modified. It has been demonstrated that PEGylation, a process which involves the coating of viral particles with poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) or poly-[N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide], has a detrimental effect on viral cell targeting and reduces host-vector interactions (Abel, Angel, Kiguchi & Di, Giovanni, 2009: 1350).
- Complement activation, a component of the immune system, has been identified as a significant impediment to the efficacy of gene transfer via viral mechanisms. PEG has been shown to mask important proteins involved in virus recognition, thereby protecting viral particles from the immune system. An alternative approach suggests that the incorporation of host cell proteins into the structure of the viral capsid may serve as a means of preventing complement activation (Vanderplasschen, Mathew, Hollinshead, Sim & Smith, 1998: 7544).
- An alternative approach involves the recombinant expression of the soluble form of CD59 in viruses, which

prevents the accumulation of the membrane attack complex and lysis of these viruses by the complement (Gandhi, Cashman & Kumar-Singh, 2011: e21621).

- Another approach to enhance gene transfer efficacy is the use of pharmacological agents that suppress the immune system. Compared to alternative approaches, this method is distinguished by its simplicity and ease of application, as it does not involve pre-design or recombinant modifications. For prophylactic purposes, IL-10 and rapamycin (an immunosuppressive drug) have been used in combination in virus-mediated gene transfer, with immune responses to exogenously administered genetic products blocked in *in vivo* animal models (Nayak et al., 2009: 1523).
- The use of a range of viruses for gene transfers has led to enhanced efficacy, attributable to the potent stimulation of the immune response by adenoviruses. The utilization of alternative viral vector systems, such as lentiviruses and adeno-associated viruses, has been demonstrated to elicit diminished immune responses (Batty & Lillicrap, 2024: 2945).

A significant challenge that undermines the efficacy of treatment is that viruses administered intravenously for therapeutic purposes primarily interact with cells found in the liver and spleen (Shashkova, Doronin, Senac & Barry, 2008: 5896). Furthermore, factors such as vector neutralization, non-cell-specific binding of viruses, retention of viral particles by cells or tissues, and the inability of viruses to detect tumor cells behind the endothelial matrix barrier limit treatment outcomes (Das et al., 2015: 259). Adenovirus serotype 5 (Ad5) vectors have been employed to enhance the therapeutic efficacy of certain types of cancer by

infecting target cancer cells through expressing of coxsackie and adenovirus receptors (CARs). These receptors are poorly expressed in human cancer cells (Coyne & Bergelson, 2006: 119; Philipson & Pettersson, 2004: 87).

The objective of this study was to enhance binding to integrin-binding viral protein subunits (HI-loops) on the capsid surface by structurally incorporating an RGD (Arg-Gly-Asp) motif into adeno-associated viruses (AAVs) for the development of viral therapy, even without targeting CAR expression (Nicol, 2005: 291). One of the earliest documented studies involved a virion design comprising both an RGD motif and a poly-lysine ligand (heparin sulfate proteoglycan) (Wu et al., 2002: 1647). In a separate study, a CAR-non-targeted chimeric adenovirus vector containing Ad3 fiber proteins incorporated into the Ad5 capsid was developed (Krasnykh, Mikheeva, Douglas & Curiel, 1996: 6839). These virions (Ad.5/3) have demonstrated antiviral efficacy in cancer cells with low CAR expression, including melanoma, ovarian cancer, renal cancer, squamous cell carcinoma, glioma, prostate cancer, pancreatic cancer and colorectal cancer (B. Azab et al., 2012: 2145; B. M. Azab et al., 2014: 34; Rupesh Dash et al., 2011: 8785; R Dash et al., 2010: 447; Eulitt et al., 2010: 1290; Hamed et al., 2013: 171; Haviv et al., 2002: 4273; Kanerva et al., 2002: 275; Kawakami et al., 2003: 1262; Park et al., 2011: 368; Rein et al., 2005: 1327; Rivera et al., 2004: 1694; Sarkar et al., 2014: 125; Volk et al., 2003: 511).

Natural tropism imposes limitations on the capacity of adenoviruses to target specific tissue/cell types, and transduction of non-target tissues due to natural tropism can result in undesirable side effects of viral applications. Consequently, both CAR and α v integrin-binding interactions have been modified to prevent CAR-associated natural tropism (Einfeld et al., 2001: 11284). In other similar designs, Ad vectors consisting of both fibrin and wild-type fibers have been developed that present a 6-His motif, demonstrating

gene transduction specific to both CAR and the artificial 6-His receptor. The incorporation of a peptide sequence (SY-GYLPLP, a vascular endothelial cell-targeting peptide) or an antibody mimetic termed "affibody" into the HI loop to facilitate cellular-specific targeting has led to enhanced gene transfer in various cancer cell lines (Das et al., 2015: 259). Adenoviruses expressing an anti-EpCAM antibody conjugated with a neutralizing fiber-inhibiting antibody have been developed to target the adhesion molecule (EpCAM) found on tumor cells (Haisma et al., 1999: 1469).

1.2 Regulation of Gene Transfer Specific Expression in Cells

The most significant consideration in the utilization of viral vectors for the transfer of diverse genetic sequences into cells for cancer treatment is the assurance of tumor-specific expression. The utilization of selective promoters, which are tailored to tumors or cancer cells, resulting in the limitation of expression in specific cellular subpopulations, represents an approach that has been extensively investigated through both *in vitro* studies and live animal experiments. The identification of an appropriate tumor-selective/specific promoter is a critical step in this approach. Rodriguez et al. (1997) designed a tumor-selective promoter by inserting a prostate-specific antigen (PSA) promoter/enhancer sequence upstream of the E1A gene, resulting in a prostate-specific oncolytic virus. However, it should be noted that the designs of viruses are not limited to the PSA promoter/enhancer. Furthermore, a surviving promoter for glioma (Van Houdt et al., 2006: 583), the β -catenin-responsive promoter for colorectal and liver cancer (Fuerer & Iggo, 2002: 270) and the tyrosinase promoter for melanoma (Nettelbeck, Rivera, Balagué, Alemany & Curiel, 2002: 4663) are a few examples of promoters utilized to direct viral replication genes in specific cancers. Similarly, oncolytic viruses have been developed using a cyclooxygenase-2 (Cox2) promoter to target various types of cancer, including cervical, ovarian, and

pancreatic cancers (Hoffmann & Wildner, 2006: 374). MUC1/DF3 (Fukazawa et al., 2010: 3), alpha-fetoprotein (AFP) (Hallenbeck et al., 1999: 1721), and squamous cell carcinoma antigen-2, which targets squamous cell carcinoma (Hamada et al., 2010: 545), as well as the glial fibrillary acidic protein promoter for GBM, have been validated at the preclinical level and have been demonstrated to be effective in various animal models.

Numerous adenovirus types have been engineered for this purpose, either as monotherapy or in combination with chemotherapy. As outlined in the following section, some of these include viruses containing the p53 gene, which is expressed under the CMV promoter (Ad5CMV-p53) (clinicaltrials.gov, Clinical Trial No. The following references are relevant to the present study: NCT00004038, NCT00003450, NCT00004225, NCT00044993, NCT00003649, NCT00004041 and NCT00003167. The following references are also relevant to the present study, albeit to a lesser extent: Ad5-yCD/mutTKSR39rep-hIL12 (NCT03281382, NCT00406939 (IL-12 only)), an oncolytic adenovirus engineered for IL-12 therapy that expresses two suicide genes and human IL-12. The Ad5 virus was modified to contain the human CD40L gene with an RSV promoter (AdCD40L) (NCT00891748). In addition, an adenoviral vector that expresses the herpes thymidine kinase gene (AdV-tk) has been developed (NCT00589875, NCT00300521, and NCT00005057). Concurrent with viral studies, non-viral clinical trials are being conducted in parallel, though in smaller numbers: cationic liposomes conjugated with an anti-transferrin receptor single-chain antibody fragment (TfRscFv), containing the tumor suppressor gene RB94 (NCT01517464) or liposomes containing epidermal growth factor receptor (EGFR) antisense DNA (NCT00009841).

Despite the extensive range of designs and methodologies that have been developed for *in vitro* studies in the literature during

clinical research, there is a limited number of studies that have reached the clinical trial stage and have been successfully completed. This situation can be attributed to preconceived notions and biases against gene therapy and virus-based studies. Moreover, owing to the expeditious and unambiguous responses engendered by immunotherapy, the chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy approach, an *ex vivo* T-cell-based treatment modality, has undergone a marked increase in utilization.

1.3 Alternative Approaches in Cancer Treatment

CAR T-cell therapy is an immunotherapeutic approach that involves the genetic modification of a patient's T cells to express a synthetic receptor that can recognize and target a specific antigen on tumor cells (Brudno, Maus & Hinrichs, 2024: 1924; Marofi et al., 2021: 81). The distinctive and precise impact of CAR T-cells is typically attributable to the integration of the extracellular antigen-binding domains of antibodies (single-chain variable fragments (scFv) and heavy chain variable region (VH)-based ligands) with the intracellular signaling mechanism of the T cell receptor (TCR) CD3 chain (Rahbarizadeh, Ahmadvand & Moghimi, 2019: 41). Despite the encouraging developments witnessed in recent years, the reasons for the failure of CAR T-cell therapy are multifactorial and may not be resolved by synthetic biological advances alone (Dimitri, Herbst & Fraietta, 2022: 78).

Gene therapy has the potential to enhance the efficacy of T cells with targeted modifications and reduce treatment risks by redirecting the specificity of the immune response, in conjunction with genome editing. The CRISPR system, when employed in conjunction with CRISPR and related Cas endonucleases, which have recently been frequently used as gene regulators, constitutes a powerful gene-editing technology that potentially allows targeting multiple genes in T cells to improve cancer immunotherapy

(Schmidt et al., 2022: eabj4008; Stadtmauer et al., 2020). Gene therapy and genome editing approaches have the potential to modify T cell dysfunction and enhance immune targeting. The interaction between programmed cell death protein 1 (PD-1) on activated T cells and PD-1 ligand (PD-1L) on cancer cells limits the lethal effects of chimeric antigen receptor (CAR) T cells on solid tumors (Hu et al., 2019: 365). It has been demonstrated that the function and persistence of T cells can be enhanced by the removal of both the endogenous T cell receptor (TCR) and the immune checkpoint molecule programmed cell death protein 1 (PD-1) from the genome sequence using CRISPR-Cas9 technology. Furthermore, the PD-1 deletion process has the capacity to enhance safety and mitigate the toxicity that may be induced by autoimmunity (NCT03399448). As demonstrated in the relevant literature, the presence of tumor cells expressing programmed death ligand 1 (PD-L1) reduces the efficacy of chimeric antigen receptor (CAR) T cells (anti-CD19 4-1BB), thereby decreasing treatment effectiveness. To reverse this suppressed antitumor response, PD-1 negative anti-CD19 CAR T cells were generated by targeting the *Pdcd1* gene in T lymphocytes using CRISPR-Cas9-mediated gene editing and lentiviral transduction.

Figure 2. CART therapy in cancer (created with BioRender.com).

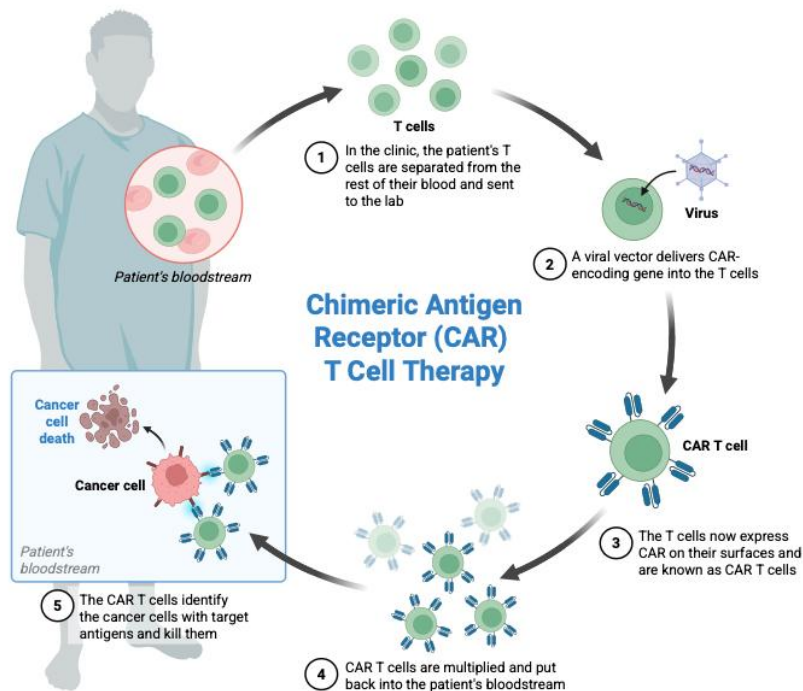
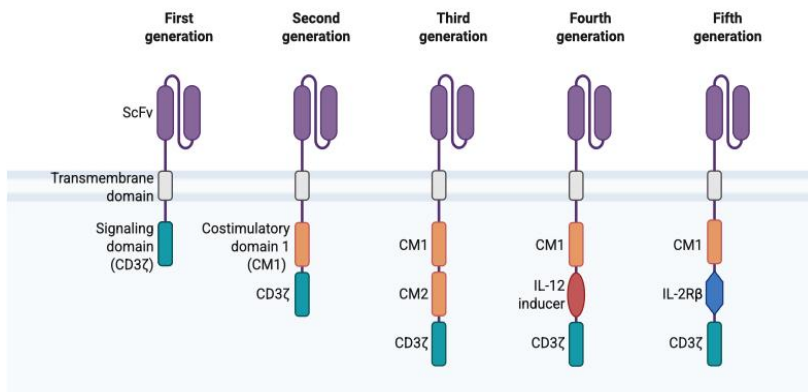


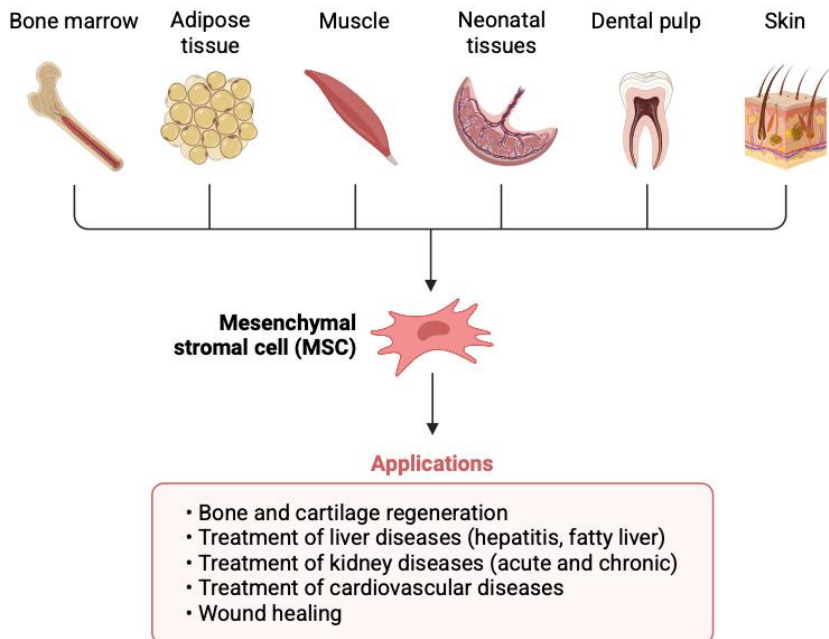
Figure 3. Structure of chimeric antigen receptors (CAR) (created with



1.4 A Different Tool for Gene Transfer: Adult Stem Cells

Considering the self-renewal and differentiation capabilities of stem cells, their role in tissue regeneration following damage is well understood. Furthermore, under normal conditions, where no damage has occurred, these cells perform regulatory functions that ensure the continuity of tissue and organ functions through the substances they release into the environment. However, these stem cells, particularly mesenchymal stem cells (MSCs), exhibit tumor tropism (tendency to migrate toward tumor sites) and can fuse with cancer cells under certain conditions, exerting effects on them. Despite the absence of a comprehensive understanding of the underlying mechanisms, MSC effects vary across different tumor types (De Becker & Riet, 2016: 73; Feng & Chen, 2009: 717; Marofi,

Figure 4. Sources and clinical use of mesenchymal stem cells (created with BioRender.com).



Vahedi, Biglari, Esmaeilzadeh & Athari, 2017: 1770; Shah, 2012: 739).

MSCs have become an attractive gene therapy target due to their natural propensity to migrate towards inflammatory and tumor microenvironments, their relatively low immunogenicity profiles, and their suitability for *ex vivo* genetic programming. These cells can exert their effects either by directly expressing therapeutic transgenes (e.g. cytokines, pro-apoptotic ligands and enzymes), or by delivering oncolytic viruses and nucleic acids (e.g. mRNA, siRNA and miRNA) to the target tissue. In brain tumors in particular, their ability to indirectly cross the blood–brain barrier and target the surgical cavity/residual tumor makes MSCs ideal for localized gene delivery in glioma. However, the context-dependent nature of the interaction between MSCs and tumors, and the potential for pro-tumor effects, necessitates careful selection of indications and engineering strategies (Antoon, Overdevest, Saleh & Keating, 2024: 3545; Lan, Luo & Wei, 2021: 195).

In the perspective of oncology, glial tumors are one of the area's most intensively studied for MSC-based gene therapies. A phase I study was conducted to evaluate the intertumoral administration of patient-derived adipose MSCs carrying the adenoviral thymidine kinase (HSV-TK) gene in recurrent glioblastoma. The study demonstrated the technical feasibility and acceptable safety of the approach, and also showed prolonged progression-free survival in some patients (ADSC-HSV-TK + ganciclovir) (Al-kharboosh et al., 2020: 443). A clinical trial is currently underway in glioblastoma, investigating the delivery of oncolytic adenovirus DNX-2401 loaded into mesenchymal stem cells (MSCs). In this study, the MSCs' objective is to deliver the virus, thereby enhancing its spread into tumor tissue (Chen, Ene, Lang & Kan, 2022: 533). MSC-derived EVs (exosomes/vesicles) have also emerged as a cell-free, potentially safer option for gene

delivery. For example, studies have demonstrated target-suppressive effects in glioma models with miR-124-loaded MSC-EVs (Katakowski et al., 2013: 201).

CONCLUSION

The potential of gene therapy can only be realized through the translation of that potential into tangible clinical benefits. In order to achieve such benefits, it is necessary to establish a safe, effective and sustainable treatment platform, as well as to achieve permanent and long-term therapeutic effects. To achieve this objective, it is imperative to comprehensively understand the biological limitations, immune response risks, vector-derived toxicities, off-target genetic alterations, and technical challenges related to the production and application processes that hinder gene therapy approaches. In addition to these obstacles, the development of innovative strategies to prevent or minimize potential side effects is an indispensable step in improving treatment safety. However, the safety and efficacy parameters, which are decisive factors in the clinical success of any treatment approach, require even more careful evaluation in the context of gene therapy. It is imperative to precisely identify the therapeutic genes that have the potential to halt or reverse the progression of the disease. In addition, it is crucial to ensure the delivery of these genes to target cells and tissues with high specificity to achieve long-term expression. These factors are instrumental in determining the success of clinical interventions over an extended period. Consequently, future advances in gene therapy

will depend not only on technological innovations, but also on safety, efficacy, and clinical applicability.

REFERENCES

Abel, E. L., Angel, J. M., Kiguchi, K., & DiGiovanni, J. (2009). Multi-stage chemical carcinogenesis in mouse skin: fundamentals and applications. *Nature Protocols*, 4(9), 1350-1362.

Al-kharboosh, R., ReFaey, K., Lara-Velazquez, M., Grewal, S. S., Imitola, J., & Quiñones-Hinojosa, A. (2020). Inflammatory Mediators in Glioma Microenvironment Play a Dual Role in Gliomagenesis and Mesenchymal Stem Cell Homing: Implication for Cellular Therapy. *Mayo Clinic Proceedings: Innovations, Quality & Outcomes*, 4(4), 443-459. doi:10.1016/j.mayocpiqo.2020.04.006

Antoon, R., Overdevest, N., Saleh, A. H., & Keating, A. (2024). Mesenchymal stromal cells as cancer promoters. *Oncogene*, 43(49), 3545-3555. doi:10.1038/s41388-024-03183-1

Azab, B., Dash, R., Das, S. K., Bhutia, S. K., Shen, X. N., Quinn, B. A., . . . Dmitriev, I. P. (2012). Enhanced delivery of mda-7/IL-24 using a serotype chimeric adenovirus (Ad. 5/3) in combination with the apogossypol derivative BI-97C1 (Sabutoclax) improves therapeutic efficacy in low CAR colorectal cancer cells. *Journal of Cellular Physiology*, 227(5), 2145-2153.

Azab, B. M., Dash, R., Das, S. K., Bhutia, S. K., Sarkar, S., Shen, X. N., . . . Wang, X. Y. (2014). Enhanced prostate cancer gene transfer and therapy using a novel serotype chimera cancer terminator virus (Ad. 5/3-CTV). *Journal of Cellular Physiology*, 229(1), 34-43.

Batty, P., & Lillicrap, D. (2024). Adeno-associated viral vector integration: implications for long-term efficacy and safety. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 22(11), 2945-2960. doi:10.1016/j.jth.2024.07.012

Brudno, J. N., Maus, M. V., & Hinrichs, C. S. (2024). CAR T Cells and T-Cell Therapies for Cancer: A Translational Science Review. *Jama*, 332(22), 1924-1935. doi:10.1001/jama.2024.19462

Chen, S. R., Chen, M. M., Ene, C., Lang, F. F., & Kan, P. (2022). Perfusion-guided endovascular super-selective intra-arterial infusion for treatment of malignant brain tumors. *Journal of NeuroInterventional Surgery*, 14(6), 533-538. doi:10.1136/neurintsurg-2021-018190

Coyne, C. B., & Bergelson, J. M. (2006). Virus-induced Abl and Fyn kinase signals permit coxsackievirus entry through epithelial tight junctions. *Cell*, 124(1), 119-131.

Das, S. K., Menezes, M. E., Bhatia, S., Wang, X. Y., Emdad, L., Sarkar, D., & Fisher, P. B. (2015). Gene therapies for cancer: strategies, challenges and successes. *Journal of Cellular Physiology*, 230(2), 259-271.

Dash, R., Azab, B., Quinn, B. A., Shen, X., Wang, X.-Y., Das, S. K., . . . Dent, P. (2011). Apogossypol derivative BI-97C1 (Sabutoclax) targeting Mcl-1 sensitizes prostate cancer cells to mda-7/IL-24-mediated toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(21), 8785-8790.

Dash, R., Dmitriev, I., Su, Z., Bhutia, S., Azab, B., Vozhilla, N., . . . Sarkar, D. (2010). Enhanced delivery of mda-7/IL-24 using a serotype chimeric adenovirus (Ad. 5/3) improves therapeutic efficacy in low CAR prostate cancer cells. *Cancer Gene Therapy*, 17(7), 447-456.

De Becker, A., & Riet, I. V. (2016). Homing and migration of mesenchymal stromal cells: How to improve the efficacy of cell therapy? *World Journal of Stem Cells*, 8(3), 73-87. doi:10.4252/wjsc.v8.i3.73

Dimitri, A., Herbst, F., & Fraietta, J. A. (2022). Engineering the next-generation of CAR T-cells with CRISPR-Cas9 gene editing. *Molecular Cancer*, 21(1), 78. doi:10.1186/s12943-022-01559-z

DL, V. (1994). An evolutionary perspective on apoptosis. *Cell*, 76, 777-779.

Einfeld, D. A., Schroeder, R., Roelvink, P. W., Lizonova, A., King, C. R., Kovesdi, I., & Wickham, T. J. (2001). Reducing the native tropism of adenovirus vectors requires removal of both CAR and integrin interactions. *Journal of Virology*, 75(23), 11284-11291.

Eulitt, P. J., Park, M. A., Hossein, H., Cruikshanks, N., Yang, C., Dmitriev, I. P., . . . Dent, P. (2010). Enhancing mda-7/IL-24 therapy in renal carcinoma cells by inhibiting multiple protective signaling pathways using sorafenib and by Ad. 5/3 gene delivery. *Cancer Biology & Therapy*, 10(12), 1290-1305.

Feng, B., & Chen, L. (2009). Review of mesenchymal stem cells and tumors: executioner or coconspirator? *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 24(6), 717-721. doi:10.1089/cbr.2009.0652

Friedmann, T. (1992). A brief history of gene therapy. *Nature Genetics*, 2(2), 93-98.

Fuerer, C., & Iggo, R. (2002). Adenoviruses with Tcf binding sites in multiple early promoters show enhanced selectivity for tumour cells with constitutive activation of the wnt signalling pathway. *Gene Therapy*, 9(4), 270-281.

Fukazawa, T., Matsuoka, J., Yamatsuji, T., Maeda, Y., Durbin, M. L., & Naomoto, Y. (2010). Adenovirus-mediated cancer gene therapy and virotherapy. *International Journal of Molecular Medicine*, 25(1), 3-10.

Gandhi, J., Cashman, S. M., & Kumar-Singh, R. (2011). Soluble CD59 expressed from an adenovirus in vivo is a potent inhibitor of complement deposition on murine liver vascular endothelium. *PLoS One*, 6(6), e21621.

Gottesman, M. M. (2002). Mechanisms of cancer drug resistance. *Annual Review of Medicine*, 53(1), 615-627.

Haisma, H., Pinedo, H., Van Rijswijk, A., Van Der Meulen-Muileman, I., Sosnowski, B., Ying, W., . . . Curiel, D. (1999). Tumor-specific gene transfer via an adenoviral vector targeted to the pancreatic carcinoma antigen EpCAM. *Gene Therapy*, 6(8), 1469-1474.

Hallenbeck, P. L., Chang, Y.-N., Hay, C., Golightly, D., Stewart, D., Lin, J., . . . Chiang, Y. L. (1999). A novel tumor-specific replication-restricted adenoviral vector for gene therapy of hepatocellular carcinoma. *Human Gene Therapy*, 10(10), 1721-1733.

Hamada, K., Zhang, T., Desaki, J., Nakashiro, K. i., Itoh, H., Tani, K., . . . Hamakawa, H. (2010). Carrier cell-mediated cell lysis of

squamous cell carcinoma cells by squamous cell carcinoma antigen 1 promoter-driven oncolytic adenovirus. *The Journal of Gene Medicine: A cross-disciplinary journal for research on the science of gene transfer and its clinical applications*, 12(6), 545-554.

Hamed, H. A., Yacoub, A., Park, M. A., Archer, K., Das, S. K., Sarkar, D., . . . Dent, P. (2013). Histone deacetylase inhibitors interact with melanoma differentiation associated-7/interleukin-24 to kill primary human glioblastoma cells. *Molecular Pharmacology*, 84(2), 171-181.

Haviv, Y. S., Blackwell, J. L., Kanerva, A., Nagi, P., Krasnykh, V., Dmitriev, I., . . . Hemminki, A. (2002). Adenoviral gene therapy for renal cancer requires retargeting to alternative cellular receptors. *Cancer Research*, 62(15), 4273-4281.

Hoffmann, D., & Wildner, O. (2006). Restriction of adenoviral replication to the transcriptional intersection of two different promoters for colorectal and pancreatic cancer treatment. *Molecular Cancer Therapeutics*, 5(2), 374-381.

Hu, W., Zi, Z., Jin, Y., Li, G., Shao, K., Cai, Q., . . . Wei, F. (2019). CRISPR/Cas9-mediated PD-1 disruption enhances human mesothelin-targeted CAR T cell effector functions. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 68(3), 365-377. doi:10.1007/s00262-018-2281-2

Kanerva, A., Mikheeva, G. V., Krasnykh, V., Coolidge, C. J., Lam, J. T., Mahasreshti, P. J., . . . Alvarez, R. D. (2002). Targeting adenovirus to the serotype 3 receptor increases gene transfer efficiency to ovarian cancer cells. *Clinical Cancer Research*, 8(1), 275-280.

Katakowski, M., Buller, B., Zheng, X., Lu, Y., Rogers, T., Osobamiro, O., . . . Chopp, M. (2013). Exosomes from marrow stromal cells expressing miR-146b inhibit glioma growth. *Cancer*

Kawakami, Y., Li, H., Lam, J. T., Krasnykh, V., Curiel, D. T., & Blackwell, J. L. (2003). Substitution of the adenovirus serotype 5 knob with a serotype 3 knob enhances multiple steps in virus replication. *Cancer Research*, 63(6), 1262-1269.

Krasnykh, V. N., Mikheeva, G. V., Douglas, J. T., & Curiel, D. T. (1996). Generation of recombinant adenovirus vectors with modified fibers for altering viral tropism. *Journal of Virology*, 70(10), 6839-6846.

Lan, T., Luo, M., & Wei, X. (2021). Mesenchymal stem/stromal cells in cancer therapy. *Journal of Hematology & Oncology*, 14(1), 195. doi:10.1186/s13045-021-01208-w

Marofi, F., Motavalli, R., Safonov, V. A., Thangavelu, L., Yumashev, A. V., Alexander, M., . . . Khiavi, F. M. (2021). CAR T cells in solid tumors: challenges and opportunities. *SStem Cell Research & Therapy*, 12(1), 81. doi:10.1186/s13287-020-02128-1

Marofi, F., Vahedi, G., Biglari, A., Esmaeilzadeh, A., & Athari, S. S. (2017). Mesenchymal Stromal/Stem Cells: A New Era in the Cell-Based Targeted Gene Therapy of Cancer. *Frontiers in Immunology*, 8, 1770. doi:10.3389/fimmu.2017.01770

Moyer, A., Tanaka, K., & Cheng, E. H. (2025). Apoptosis in Cancer Biology and Therapy. *Annual Review of Pathology*, 20(1), 303-328. doi:10.1146/annurev-pathmechdis-051222-115023

Nayak, S., Cao, O., Hoffman, B., Cooper, M., Zhou, S., Atkinson, M., & Herzog, R. (2009). Prophylactic immune tolerance induced by changing the ratio of antigen-specific effector to regulatory T cells. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 7(9), 1523-1532.

Nettelbeck, D. M., Rivera, A. A., Balagué, C., Alemany, R., & Curiel, D. T. (2002). Novel oncolytic adenoviruses targeted to melanoma: specific viral replication and cytolysis by expression of E1A mutants from the tyrosinase enhancer/promoter. *Cancer Research*, 62(16), 4663-4670.

Nicol, C. G. (2005). *The development of genetically-targeted adenoviral vectors for in vivo delivery to the heart*. (Ph.D.). University of Glasgow (United Kingdom), Scotland. Retrieved from <https://www.proquest.com/dissertations-theses/development-genetically-targeted-adenoviral/docview/2023741885/se-2?accountid=16382> ProQuest Dissertations & Theses Global database. (10806046)

Park, M. A., Hamed, H. A., Mitchell, C., Cruickshanks, N., Dash, R., Allegood, J., . . . Spiegel, S. (2011). A serotype 5/3 adenovirus expressing MDA-7/IL-24 infects renal carcinoma cells and promotes toxicity of agents that increase ROS and ceramide levels. *Molecular Pharmacology*, 79(3), 368-380.

Philipson, L., & Pettersson, R. (2004). The coxsackie-adenovirus receptor—a new receptor in the immunoglobulin family involved in cell adhesion. *Adenoviruses: Model and Vectors in Virus-Host Interactions: Immune System, Oncogenesis, Gene Therapy*, 87-111.

Rahbarizadeh, F., Ahmadvand, D., & Moghimi, S. M. (2019). CAR T-cell bioengineering: Single variable domain of heavy chain antibody targeted CARs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 141, 41-46. doi:10.1016/j.addr.2019.04.006

Rein, D. T., Breidenbach, M., Kirby, T. O., Han, T., Siegal, G. P., Bauerschmitz, G. J., . . . Yamamoto, M. (2005). A fiber-modified, secretory leukoprotease inhibitor promoter-based conditionally replicating adenovirus for treatment of ovarian cancer. *Clinical Cancer Research*, 11(3), 1327-1335.

Rivera, A., Davydova, J., Schierer, S., Wang, M., Krasnykh, V., Yamamoto, M., . . . Nettelbeck, D. (2004). Combining high selectivity of replication with fiber chimerism for effective adenoviral oncolysis of CAR-negative melanoma cells. *Gene Therapy*, 11(23), 1694-1702.

Sarkar, S., Azab, B., Quinn, B., Shen, X., Dent, P., Klibanov, A., . . . Fisher, P. (2014). Chemoprevention gene therapy (CGT) of pancreatic cancer using perillyl alcohol and a novel chimeric serotype cancer terminator virus. *Current Molecular Medicine*, 14(1), 125-140.

Schmidt, R., Steinhart, Z., Layeghi, M., Freimer, J. W., Bueno, R., Nguyen, V. Q., . . . Marson, A. (2022). CRISPR activation and interference screens decode stimulation responses in primary human T cells. *Science*, 375(6580), eabj4008. doi:10.1126/science.abj4008

Shah, K. (2012). Mesenchymal stem cells engineered for cancer therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64(8), 739-748. doi:10.1016/j.addr.2011.06.010

Shashkova, E. V., Doronin, K., Senac, J. S., & Barry, M. A. (2008). Macrophage depletion combined with anticoagulant therapy increases therapeutic window of systemic treatment with oncolytic adenovirus. *Cancer Research*, 68(14), 5896-5904.

Stadtmauer, E. A., Fraietta, J. A., Davis, M. M., Cohen, A. D., Weber, K. L., Lancaster, E., . . . June, C. H. (2020). CRISPR-engineered T cells in patients with refractory cancer. *Science*, 367(6481). doi:10.1126/science.aba7365

Van Houdt, W. J., Haviv, Y. S., Lu, B., Wang, M., Rivera, A. A., Ulasov, I. V., . . . Siegal, G. P. (2006). The human survivin promoter: a novel transcriptional targeting strategy for treatment of glioma. *Journal of Neurosurgery*, 104(4), 583-592.

Vanderplasschen, A., Mathew, E., Hollinshead, M., Sim, R. B., & Smith, G. L. (1998). Extracellular enveloped vaccinia virus is resistant to complement because of incorporation of host complement control proteins into its envelope. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(13), 7544-7549.

Volk, A. L., Rivera, A. A., Kanerva, A., Bauerschmitz, G., Dmitriev, I., Nettelbeck, D. M., & Curiel, D. T. (2003). Enhanced adenovirus infection of melanoma cells by fiber-modification: incorporation of RGD peptide or Ad5/3 chimerism. *Cancer Biology & Therapy*, 2(5), 511-515.

Vrellaku, B., Sethw Hassan, I., Howitt, R., Webster, C. P., Harriss, E., McBlane, F., . . . Servais, L. (2024). A systematic review of immunosuppressive protocols used in AAV gene therapy for monogenic disorders. *Molecular Therapy*, 32(10), 3220-3259. doi:10.1016/j.ymthe.2024.07.016

Wirth, T., Parker, N., & Ylä-Herttuala, S. (2013). History of gene therapy. *Gene*, 525(2), 162-169.

Wu, H., Seki, T., Dmitriev, I., Uil, T., Kashentseva, E., Han, T., & Curiel, D. T. (2002). Double modification of adenovirus fiber with RGD and polylysine motifs improves coxsackievirus–adenovirus receptor-independent gene transfer efficiency. *Human Gene Therapy*, 13(13), 1647-1653.

BÖLÜM 5

MOLECULAR MECHANISMS OF NEWLY SYNTHESIZED MOLECULES IN CANCER TREATMENT

1. Ayşe Nur COŞKUN DEMİRKALP¹

Introduction

Cancer is a heterogeneous group of diseases resulting from the interaction of genetic and environmental factors, and is among the leading causes of morbidity and mortality worldwide (Sung et al., 2021). Despite advances in diagnostic methods and treatment protocols, chemotherapy resistance, metastatic spread tendency, and low survival rates in many cancer types limit the effectiveness of current treatment approaches (Vasan et al., 2019). Furthermore,

¹ Asst. Prof. Dr., Kırşehir Ahi Evran University, Medical Services and Techniques
Orcid: 0000-0002-8125-7670

many classical anticancer agents can cause serious side effects on healthy cells, and long-term use increases toxicity. This situation increasingly highlights the need for new, more selective, low-side-effect profile, and molecularly targeted therapeutic strategies (Arruebo et al., 2011).

Newly synthesized molecules offer significant potential in modern cancer treatment thanks to their unique chemical structures, functional groups, and selective interactions with specific biological targets. Advances in chemical synthesis technologies and the widespread use of structure-activity relationship (SAR) analyses have enabled researchers to develop more rational drug designs targeting specific biomolecular targets (Ertl, 2020). Schiff base derivatives, metal complexes, heterocyclic compounds, semi-synthetic agents derived from natural products, redox-active molecules, and lipophilic next-generation compounds are among the most frequently studied structures in this context (Patel et al., 2021). These molecules, thanks to their unique chemical properties, can induce apoptosis in cancer cells, suppress proliferation, or target metabolic vulnerabilities observed in tumors.

One of the most important advantages of newly synthesized molecules in cancer treatment is their capacity to target multiple biological pathways simultaneously. Frequent cell cycle control disorders in cancer cells, overexpression of anti-apoptotic proteins, enhanced tolerance to reactive oxygen species (ROS), overactivation of survival pathways such as PI3K/Akt and MAPK/ERK, and epigenetic reprogramming are key processes intervened by these compounds (Hanahan, 2022). In addition, the immunosuppressive nature of the tumor microenvironment, inflammatory signaling, angiogenesis, and molecular changes related to metastatic processes are also among the current targets of next-generation molecular agents (Quail & Joyce, 2017).

This book chapter aims to comprehensively address the fundamental biochemical and molecular mechanisms of action of newly synthesized molecules in cancer treatment. In particular, cell cycle regulation, intrinsic and extrinsic apoptosis pathways, oxidative stress and redox imbalance, modulation of signal transduction networks, and epigenetic mechanisms will be discussed in detail. Furthermore, cell culture models used in the preclinical evaluation of newly synthesized molecules, toxicity analyses, real-time cell monitoring systems, and in vivo experimental approaches will also be addressed. The information presented here aims to provide a scientific basis for new molecule development studies and to offer researchers a holistic perspective on the process from synthesis to clinical application.

Classification of Newly Synthesized Molecules

Newly synthesized products developed for use in cancer treatment are examined under a very broad classification based on their chemical structures, pharmacophore groups, biological targets, and cellular mechanisms of action. The classification of new generation molecules is not based solely on chemical bonds; factors such as the molecule's protein binding affinity, intracellular distribution, bioavailability, metabolic stability, redox properties, and interaction with the tumor microenvironment are also among the key determining criteria (Patel et al., 2021; Ertl, 2020). This section comprehensively addresses the types of newly synthesized molecules; the chemical properties, biological effects, potential for use in cancer treatment, and literature findings of each class are discussed in detail.

Schiff bases are compounds formed through the condensation of carbonyl compounds with primary amines, characterized by the presence of an imine (--C=N--) functional group. The anticancer potential of this chemical class has been recognized

for decades, with evidence indicating that their biological activity is markedly enhanced when coordinated with metal ions to form metal complexes (Da Silva et al., 2011). The imine bond exhibits a strong affinity for metal coordination, while the presence of aromatic rings increases lipophilicity, thereby facilitating cellular membrane permeability. Additionally, conjugated structures enhance the ability of Schiff bases to intercalate with DNA. The anticancer effects of Schiff base derivatives are mediated through multiple mechanisms, including DNA intercalation and inhibition of topoisomerase activity (Patel et al., 2021), activation of apoptosis via mitochondrial membrane potential collapse (Gürbüz et al., 2019), induction of oxidative stress through increased reactive oxygen species (ROS) production, and inhibition of key regulatory proteins such as cyclin-dependent kinases (CDKs), epidermal growth factor receptor (EGFR), and Bcl-2. In particular, copper-Schiff base complexes are among the strongest candidates showing selective toxicity in cancer cells (Tardito & Marchiò, 2009).

Metal Complexes, The clinical success of cisplatin paved the way for the development of anticancer compounds based on metal ions, and this area remains one of the most important topics in drug development research (Barry & Sadler, 2013).

Platinum Complexes, Cisplatin, carboplatin, oxaliplatin, and new generation Pt(IV) pro-drugs. They halt replication by forming intrastrand and interstrand cross-links in DNA. New Pt(IV) complexes are more stable and become active in cancer cells by being reduced to Pt(II) (Johnstone et al., 2014).

Copper Complexes, Copper-based complexes have attracted considerable attention as anticancer agents due to their intrinsic redox activity and ability to participate in biologically relevant electron transfer reactions. When coordinated with Schiff base, salicylic acid, or triazole ligands, copper complexes exhibit pronounced anticancer effects, which are largely attributed to

enhanced stability, improved cellular uptake, and selective accumulation in tumor cells. A key mechanism underlying their cytotoxic activity involves the induction of oxidative stress through Fenton-like reactions, leading to excessive production of reactive oxygen species (ROS). Elevated ROS levels cause oxidative damage to DNA, proteins, and lipids, ultimately triggering mitochondrial dysfunction and apoptosis. Moreover, the redox cycling between Cu(I) and Cu(II) states enables sustained ROS generation, contributing to the potent anticancer activity of these complexes (Denoyer et al., 2015).

Ruthenium-based compounds, such as NAMI-A and KP1019, have emerged as promising alternatives to platinum-based chemotherapeutic agents due to their lower systemic toxicity and distinct biological profiles. Unlike classical platinum drugs that primarily exert cytotoxic effects, ruthenium complexes have demonstrated notable antimetastatic activity, inhibiting tumor invasion and dissemination rather than directly targeting rapidly dividing cells. Their ability to mimic iron in biological systems facilitates selective uptake by tumor tissues, while their versatile coordination chemistry allows for fine-tuning of ligand structures to optimize pharmacokinetic and pharmacodynamic properties. These features, combined with reduced nephrotoxicity and improved tolerability, position ruthenium complexes as attractive candidates for next-generation anticancer therapies (Kia et al., 2019).

Iron- and manganese-based complexes are distinguished by their strong redox-active properties, which enable them to disrupt redox homeostasis within cancer cells. Through redox cycling, these metal complexes can induce excessive oxidative stress, leading to non-apoptotic forms of regulated cell death such as necroptosis and ferroptosis. In particular, Fe(III) complexes have attracted significant interest due to their ability to promote lipid peroxidation and iron-dependent reactive oxygen species generation, key

hallmarks of ferroptosis. The induction of ferroptotic cell death is especially promising for the treatment of aggressive and therapy-resistant tumors, where conventional apoptosis-based strategies often fail. Manganese complexes further contribute to oxidative stress by modulating mitochondrial function and redox signaling pathways, enhancing their anticancer potential. Collectively, these properties highlight iron and manganese complexes as emerging candidates in redox-based anticancer strategies (Stockwell et al., 2017).

Heterocyclic Structures: More than 60% of modern anticancer drugs contain heterocyclic scaffolds, underscoring their central role in contemporary drug design (Chen et al., 2020). Heterocyclic structures possess unique electronic and steric properties that enable highly specific interactions with protein targets involved in cancer progression. Among the most prominent classes, quinazoline derivatives are well known for their efficacy as epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitors, exemplified by clinically approved agents such as erlotinib and gefitinib. Pyrimidine-based compounds have been extensively developed as inhibitors of cyclin-dependent kinases (CDKs) and phosphoinositide 3-kinase (PI3K), thereby interfering with key signaling pathways that regulate cell cycle progression and survival. Benzimidazole derivatives exert anticancer effects primarily through microtubule destabilization, leading to mitotic arrest and subsequent cell death. In addition, indole and indazole derivatives play critical roles in the modulation of apoptotic signaling pathways by targeting multiple molecular mediators. Collectively, many heterocyclic anticancer agents not only suppress survival and proliferation signaling but also inhibit matrix metalloproteinases (MMPs), which are closely associated with tumor invasion and metastasis, highlighting their multifunctional therapeutic potential.

Natural products represent one of the richest and most productive sources for anticancer drug discovery, with approximately 48% of FDA-approved anticancer agents being either natural products or their derivatives (Newman & Cragg, 2020). These compounds exhibit remarkable structural diversity and biological specificity, enabling them to modulate multiple cancer-related pathways. Major classes include flavonoids such as quercetin and apigenin, which exert anticancer effects primarily through suppression of the PI3K/Akt signaling pathway; terpenoids, including paclitaxel (taxol) and artemisinin, which induce cytotoxicity via microtubule stabilization and reactive oxygen species (ROS) generation; alkaloids such as vinblastine and camptothecin, well known for their ability to inhibit topoisomerase activity; and polyphenols such as resveratrol, which have been shown to modulate epigenetic mechanisms involved in tumor progression. To overcome limitations associated with poor bioavailability or instability of native natural products, semi-synthetic derivatives—including docetaxel and topotecan—have been developed, offering improved pharmacokinetic properties, enhanced potency, and increased clinical applicability.

Redox-Active Molecules: The dysregulated redox balance and elevated basal levels of reactive oxygen species (ROS) in cancer cells render redox-active molecules particularly attractive as anticancer agents (Trachootham et al., 2009). Compounds within this class exploit the vulnerability of tumor cells to oxidative stress by further increasing ROS levels beyond the cellular tolerance threshold. Quinone derivatives induce cytotoxicity primarily through free radical-mediated DNA damage and redox cycling processes, while N-oxide-containing molecules can undergo selective bioreductive activation in hypoxic tumor regions, thereby enhancing tumor selectivity and minimizing damage to normal tissues. Isothiocyanates exert anticancer effects by modulating phase

II detoxification enzymes and disrupting cellular redox homeostasis. Notably, redox-active molecules demonstrate heightened efficacy in tumors with elevated glutathione levels, where adaptive antioxidant mechanisms can be overwhelmed, leading to oxidative damage, mitochondrial dysfunction, and subsequent cell death.

Lipophilic compounds readily traverse cellular membranes and exert selective cytotoxic effects on cancer cells by preferentially targeting mitochondria, which play a central role in tumor cell metabolism and survival. These molecules accumulate within the mitochondrial matrix driven by the elevated mitochondrial membrane potential characteristic of cancer cells, leading to mitochondrial membrane depolarization, suppression of ATP production, and release of cytochrome c into the cytosol. Subsequent activation of caspase cascades ultimately results in apoptotic cell death. Among this class, molecules conjugated with the lipophilic cation triphenylphosphonium (TPP^+) have gained considerable attention in recent years due to their efficient mitochondrial targeting and enhanced anticancer efficacy. By selectively disrupting mitochondrial bioenergetics and redox homeostasis, TPP^+ -conjugated compounds represent a promising strategy for the development of next-generation mitochondria-directed anticancer therapeutics (Modica-Napolitano & Aprille, 2017).

Novel Molecules Designed as Kinase Inhibitors: Newly developed molecules targeting aberrantly activated kinases in cancer cells constitute the core of modern targeted cancer therapy. Dysregulated kinase signaling plays a pivotal role in tumor initiation, progression, angiogenesis, and therapy resistance, making kinases highly attractive therapeutic targets. Key kinases frequently targeted in anticancer drug development include epidermal growth factor receptor (EGFR), vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR), anaplastic lymphoma kinase (ALK), BCR–ABL fusion kinase, phosphoinositide 3-kinase (PI3K), and the mammalian target

of rapamycin (mTOR). Many newly designed heterocyclic molecules exhibit high affinity for the ATP-binding pockets of these kinases, enabling selective inhibition of kinase activity and downstream oncogenic signaling pathways. Through rational drug design and structure–activity relationship optimization, these inhibitors achieve improved selectivity and potency, contributing to enhanced therapeutic efficacy and reduced off-target toxicity.

Molecular Mechanisms of Action

The therapeutic efficacy of newly synthesized anticancer molecules is largely determined by their ability to target fundamental biological processes that are dysregulated in cancer cells. Malignant cells exhibit a wide spectrum of molecular abnormalities, including uncontrolled proliferation, evasion of apoptosis, genomic instability, metabolic reprogramming, hyperactivation of intracellular signaling pathways, and epigenetic dysregulation. Consequently, contemporary drug development strategies have shifted from single-target approaches toward the design of multifunctional molecules capable of modulating multiple cellular pathways simultaneously (Hanahan, 2022). In this context, newly developed anticancer compounds exert their effects through diverse molecular mechanisms, which are discussed in this section under the headings of cell cycle regulation, apoptotic signaling pathways, oxidative stress and redox homeostasis, modulation of intracellular signaling cascades, epigenetic regulation, and interactions with the tumor microenvironment.

The cell cycle is a tightly regulated process governed by cyclins, cyclin-dependent kinases (CDKs), and CDK inhibitors. In cancer cells, these regulatory mechanisms are frequently disrupted, and the inactivation of critical checkpoints at the G1/S or G2/M transitions leads to uncontrolled cell proliferation (Malumbres & Barbacid, 2009). Newly synthesized anticancer molecules are

capable of inducing cell cycle arrest through multiple mechanisms, including inhibition of CDK2, CDK4/6, and CDK1, suppression of cyclin D1 and cyclin E expression, and activation of CDK inhibitors such as p21 and p27. In particular, small heterocyclic molecules have been shown to exhibit high affinity for the ATP-binding pockets of CDKs, resulting in effective suppression of kinase activity (Asghar et al., 2015). Moreover, numerous Schiff base derivatives and kinase inhibitor candidates have been demonstrated to induce cell cycle arrest at the G0/G1 or G2/M phases in cancer cells, an effect that is often followed by the activation of apoptotic pathways (Otto & Sicinski, 2017).

Apoptosis is a vital form of programmed cell death that plays a central role in maintaining organismal homeostasis. In cancer cells, however, the overexpression of anti-apoptotic proteins and suppression of pro-apoptotic factors enable malignant cells to evade apoptosis and survive under conditions that would normally trigger cell death (Pfeffer & Singh, 2018).

A substantial proportion of newly synthesized anticancer molecules exert their cytotoxic effects by targeting the mitochondria-mediated intrinsic apoptotic pathway. This mechanism involves activation of the pro-apoptotic proteins Bax and Bak, suppression of anti-apoptotic members such as Bcl-2 and Bcl-xL, loss of mitochondrial membrane potential, and subsequent release of cytochrome c into the cytosol. These events lead to the sequential activation of initiator caspase-9 and executioner caspase-3, culminating in apoptotic cell death (Youle & Strasser, 2008). Lipophilic and mitochondria-targeted molecules are particularly effective in this context, as they can directly accumulate within the mitochondrial membrane and induce selective toxicity. This effect is especially pronounced in tumor cells with high metabolic activity and elevated mitochondrial dependence (Modica-Napolitano & Aprille, 2017).

Certain newly synthesized anticancer agents are capable of initiating apoptosis through activation of death receptors located on the cell surface, including Fas (CD95) and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptors (TRAIL-R1/R2). Engagement of these receptors leads to the formation of the death-inducing signaling complex (DISC) and subsequent activation of initiator caspase-8. Activated caspase-8 not only directly triggers downstream executioner caspases but also induces truncation of the BH3-only protein Bid, thereby establishing critical crosstalk between the extrinsic and intrinsic mitochondrial apoptotic pathways. This amplification loop enhances apoptotic signaling and contributes to the effective elimination of cancer cells, highlighting the therapeutic relevance of death receptor-mediated apoptosis in anticancer drug development (Ashkenazi, 2015).

Cancer cells characteristically generate higher basal levels of reactive oxygen species (ROS) compared to normal cells; however, they concurrently develop robust antioxidant defense mechanisms that enhance their tolerance to oxidative stress (Trachootham et al., 2009). Newly synthesized redox-active molecules exploit this vulnerability by further perturbing redox balance, thereby pushing intracellular ROS levels beyond the threshold compatible with cell survival. These compounds induce cytotoxicity through multiple mechanisms, including enhancement of ROS production, depletion of intracellular glutathione (GSH) levels, and suppression of antioxidant enzymes. Metal complexes and quinone derivatives are particularly effective in mediating oxidative stress-induced cytotoxicity through these pathways (Liou & Storz, 2010). Excessive ROS accumulation results in widespread macromolecular damage, including DNA strand breaks, lipid peroxidation, and protein oxidation, ultimately triggering programmed and non-programmed cell death pathways such as apoptosis, necroptosis, or ferroptosis (Stockwell et al., 2017).

Key Signaling Pathways in Cancer Cell Survival and Proliferation: Among the principal signaling pathways involved in cancer cell survival, proliferation, and therapy resistance are the PI3K/Akt/mTOR, MAPK/ERK, JAK/STAT, and NF- κ B pathways, all of which are frequently dysregulated in malignant cells.

PI3K/Akt/mTOR Pathway: The PI3K/Akt/mTOR signaling cascade plays a critical role in regulating cellular growth, metabolism, and evasion of apoptosis. Aberrant activation of this pathway is a hallmark of many cancer types and is closely associated with tumor progression and therapeutic resistance. Numerous newly synthesized small molecules have been shown to exert anticancer effects by attenuating Akt phosphorylation, suppressing mTOR activity, and inducing autophagy, thereby disrupting pro-survival signaling and sensitizing cancer cells to cell death (Hua et al., 2019).

MAPK/ERK Pathway: Aberrant activation of the mitogen-activated protein kinase (MAPK)/extracellular signal-regulated kinase (ERK) pathway is closely associated with enhanced cell proliferation, invasion, and metastatic potential in cancer. Persistent stimulation of this signaling cascade promotes uncontrolled growth and resistance to apoptosis. Heterocyclic molecules and kinase inhibitors have demonstrated significant efficacy in suppressing MAPK/ERK signaling by inhibiting upstream kinases or directly targeting ERK activation, thereby reducing tumor cell proliferation and metastatic behavior (Dhillon et al., 2007).

NF- κ B and STAT3 Signaling: The transcription factors nuclear factor kappa B (NF- κ B) and signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) play pivotal roles in inflammation, cell survival, immune evasion, and angiogenesis in cancer. Constitutive activation of these pathways contributes to tumor progression and resistance to therapy. Recent studies have shown that newly synthesized anticancer agents can inhibit NF- κ B nuclear translocation and suppress STAT3 activation, leading to

downregulation of pro-survival and pro-inflammatory gene expression and enhanced susceptibility of cancer cells to apoptosis (Yu et al., 2014).

Regulation of Epigenetic Mechanisms: Epigenetic alterations play a fundamental role in cancer development and progression by inducing heritable yet reversible changes in gene expression without altering the underlying DNA sequence. Key epigenetic mechanisms include DNA methylation, histone modifications, and chromatin remodeling, all of which contribute to the stable silencing of tumor suppressor genes and aberrant activation of oncogenic pathways (Jones & Baylin, 2007). Newly synthesized epigenetic modulator molecules exert anticancer effects through diverse mechanisms, including inhibition of DNA methyltransferases (DNMTs), leading to reactivation of tumor suppressor genes; inhibition of histone deacetylases (HDACs), resulting in chromatin relaxation and enhanced transcriptional activity; and inhibition of bromodomain and extraterminal (BET) proteins, which suppress oncogene expression. Notably, epigenetic agents offer significant therapeutic advantages in combination treatment strategies, particularly for chemotherapy-resistant tumors, by restoring drug sensitivity and modulating multiple cancer-associated pathways simultaneously (Dawson & Kouzarides, 2012).

Effects on the Tumor Microenvironment and Metastasis: Next-generation anticancer molecules are designed not only to target cancer cells directly but also to modulate the tumor microenvironment, which plays a critical role in tumor growth, immune evasion, and metastatic dissemination. Key processes within the tumor microenvironment include angiogenesis, extracellular matrix remodeling, and interactions with immune cells. Newly synthesized compounds have been shown to exert anti-metastatic effects through multiple mechanisms, including suppression of vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling,

inhibition of matrix metalloproteinases such as MMP-2 and MMP-9, and blockade of epithelial–mesenchymal transition (EMT). By interfering with these processes, these agents limit tumor invasion, migration, and colonization of distant organs, highlighting their potential as effective strategies for controlling cancer progression and metastasis (Quail & Joyce, 2013).

Future Perspectives

The development of newly synthesized molecules in cancer treatment is not limited to obtaining effective compounds; it also encompasses multi-dimensional approaches such as target-specific delivery of these molecules, increasing their bioavailability, reducing their toxicity, and improving their clinical success. In this context, nanoparticle-based delivery systems, combination therapies, and artificial intelligence-assisted drug design are among the most important strategies shaping the future of anticancer drug development processes.

Nanoparticle-Based Drug Delivery Systems: Nanotechnology has attracted increasing interest in cancer therapy due to its strong potential to optimize the pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of newly synthesized anticancer molecules. Nanoparticle-based delivery systems encompass a wide range of platforms, including liposomes, polymeric nanoparticles, dendrimers, metal nanoparticles, and solid lipid nanoparticles. These systems can prolong the retention of therapeutic agents within tumor tissues while significantly reducing off-target toxicity in healthy tissues. Encapsulation of newly developed molecules into nanoparticulate carriers effectively addresses classical challenges in drug development, such as poor aqueous solubility, rapid metabolic degradation, and nonspecific biodistribution. Moreover, passive targeting can be achieved by exploiting the enhanced permeability and retention (EPR) effect characteristic of tumor vasculature. In

addition to passive targeting, active targeting strategies further enhance tumor selectivity through surface functionalization of nanoparticles with antibodies, peptides, or ligands such as folate and transferrin. Recent advances in the development of smart nanoparticle systems—responsive to redox conditions, pH changes, or enzymatic activity—enable controlled and stimuli-triggered drug release by leveraging the unique biochemical features of the tumor microenvironment. Collectively, these approaches significantly improve the therapeutic efficacy of newly synthesized molecules while minimizing systemic side effects, highlighting the growing importance of nanotechnology in modern anticancer drug delivery (Peer et al., 2007; Torchilin, 2014).

Combination Therapies and Synergistic Approaches: The heterogeneous nature of cancer cells and their capacity to develop adaptive resistance mechanisms significantly limit the long-term efficacy of single-agent therapies. Consequently, the use of newly synthesized molecules in combination with existing chemotherapeutic agents, targeted therapies, or immunotherapies is increasingly regarded as one of the most promising strategies in modern cancer treatment. Combination therapies aim to suppress multiple biological pathways within tumor cells through the simultaneous or sequential administration of agents with distinct mechanisms of action. For instance, combining a newly synthesized compound that induces apoptosis with a DNA-damaging chemotherapeutic agent can result in synergistic cytotoxic effects. Similarly, novel molecules with epigenetic regulatory properties have been shown to restore sensitivity to conventional chemotherapy. In addition to enhancing therapeutic efficacy, combination strategies allow for dose reduction of individual agents, thereby minimizing toxicity and improving patient compliance. Preclinical combination studies conducted in cell culture systems and in vivo models provide a robust scientific foundation for clinical

translation. Therefore, early evaluation of the combination potential of newly synthesized molecules has emerged as a critical component of anticancer drug development pipelines (Al-Lazikani et al., 2012; Bayat Mokhtari et al., 2017).

AI-Assisted Drug Design: Artificial intelligence (AI) and machine learning approaches are transforming the landscape of drug discovery and development by introducing unprecedented levels of efficiency and precision. In particular, AI-based methodologies applied during the design phase of newly synthesized molecules offer substantial advantages in terms of time and cost reduction. These approaches enable highly accurate predictions across multiple stages of drug development, including virtual screening, molecular docking, structure–activity relationship (SAR) modeling, and toxicity prediction. Deep learning algorithms trained on large chemical and biological datasets facilitate the identification and design of molecules with high affinity for specific biological targets, thereby reducing the need for extensive experimental screening of large compound libraries. As a result, the most promising candidates can be prioritized early, significantly improving the efficiency of laboratory-based studies. Moreover, AI-assisted models can predict key pharmacokinetic parameters such as lipophilicity, bioavailability, metabolic stability, and potential toxicity, contributing to more informed decision-making in lead optimization. Looking ahead, the integration of AI-driven drug design with nanoparticle-based delivery systems and combination therapy strategies is expected to play a pivotal role in the advancement of personalized cancer treatments. This holistic and multidisciplinary paradigm aims to enhance the clinical success rates of newly synthesized anticancer molecules (Zhavoronkov et al., 2019; Vamathevan et al., 2019).

Conclusion

Cancer is a highly heterogeneous disease shaped by complex genetic, epigenetic, and environmental interactions, which limits the effectiveness of conventional single-target therapies. This complexity necessitates the development of more selective, multitargeted, and personalized treatment strategies. In this context, newly synthesized molecules have emerged as promising candidates in modern oncology due to their diverse chemical structures and multifaceted mechanisms of action.

This chapter has summarized the anticancer potential of newly synthesized molecules within the framework of their chemical classifications, molecular mechanisms, preclinical evaluation strategies, and structure–activity relationships. Key mechanisms underlying their therapeutic effects include cell cycle regulation, reactivation of apoptotic pathways, disruption of redox homeostasis, modulation of critical intracellular signaling cascades, and epigenetic regulation. Together, these multidimensional activities highlight the potential of novel compounds to overcome major clinical challenges such as chemoresistance and tumor adaptation.

Rational drug design approaches, supported by SAR analyses and molecular modeling, play a central role in optimizing the efficacy and selectivity of these molecules. Looking forward, the integration of nanoparticle-based delivery systems, combination therapy strategies, and artificial intelligence–assisted drug design is expected to significantly enhance the clinical translation and success of newly synthesized anticancer agents.

In conclusion, newly synthesized molecules represent not only alternative therapeutic options but also key components of next-generation targeted and personalized cancer treatments. Continued interdisciplinary collaboration will be essential to translate these advances into effective and sustainable clinical solutions.

Kaynakça

- Al-Lazikani, B., Banerji, U., & Workman, P. (2012). Combinatorial drug therapy for cancer in the post-genomic era. *Nature Biotechnology*, 30(7), 679–692.
- Arruebo, M., Vilaboa, N., Sáez-Gutierrez, B., Lambea, J., Tres, A., Valladares, M., & González-Fernández, Á. (2011). Assessment of the evolution of cancer treatment therapies. *Cancers*, 3(3), 3279–3330.
- Ashkenazi, A. (2015). Targeting the extrinsic apoptosis pathway in cancer. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 26(3), 329–335.
- Asghar, U., Witkiewicz, A. K., Turner, N. C., & Knudsen, E. S. (2015). The history and future of targeting cyclin-dependent kinases in cancer therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 14(2), 130–146.
- Barry, N. P., & Sadler, P. J. (2013). Exploration of the medical periodic table: Towards new targets. *Chemical Communications*, 49(45), 5106–5131.
- Bayat Mokhtari, R., Homayouni, T. S., Baluch, N., Morgatskaya, E., Kumar, S., Das, B., & Yeger, H. (2017). Combination therapy in combating cancer. *Oncotarget*, 8(23), 38022–38043.
- Chen, H., Dong, J., & Li, J. (2020). Heterocyclic compounds in cancer therapy. *Bioorganic Chemistry*, 95, 103556.
- Da Silva, C. M., da Silva, D. L., Modolo, L. V., et al. (2011). Schiff bases: A short review of their antimicrobial and anticancer potential. *Journal of Advanced Research*, 2(1), 1–8.
- Dawson, M. A., & Kouzarides, T. (2012). Cancer epigenetics: From mechanism to therapy. *Cell*, 150(1), 12–27.

- Denoyer, D., Masaldan, S., La Fontaine, S., & Cater, M. A. (2015). Targeting copper in cancer therapy. *Metallomics*, 7(10), 1459–1476.
- Dhillon, A. S., Hagan, S., Rath, O., & Kolch, W. (2007). MAP kinase signalling pathways in cancer. *Oncogene*, 26(22), 3279–3290.
- Ertl, P. (2020). Molecular structure input on the web. *Journal of Cheminformatics*, 12(1), 1–7.
- Gürbüz, D., Kaya, B., & Arslan, H. (2019). Cytotoxic effects of novel Schiff base derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 89, 103006.
- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of cancer: New dimensions. *Cancer Discovery*, 12(1), 31–46.
- Hansch, C., Leo, A., & Hoekman, D. (2003). Exploring QSAR: Hydrophobic, electronic, and steric constants. American Chemical Society.
- Hidalgo, M., Amant, F., Biankin, A. V., et al. (2014). Patient-derived xenograft models: An emerging platform for translational cancer research. *Cancer Discovery*, 4(9), 998–1013.
- Hua, H., Kong, Q., Zhang, H., Wang, J., Luo, T., & Jiang, Y. (2019). Targeting mTOR for cancer therapy. *Journal of Hematology & Oncology*, 12, 71.
- Johnstone, T. C., Suntharalingam, K., & Lippard, S. J. (2014). The next generation of platinum drugs: Targeted Pt(IV) prodrugs. *Chemical Reviews*, 116(5), 3436–3486.
- Jones, P. A., & Baylin, S. B. (2007). The epigenomics of cancer. *Cell*, 128(4), 683–692.
- Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(11), 935–949.

- Kubinyi, H. (2003). Drug research: Myths, hype and reality. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2(8), 665–668.
- Kumari, S., et al. (2020). Biological evaluation of Schiff bases. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 205, 112652.
- Kia, A. F., et al. (2019). Ruthenium complexes in cancer therapy. *Coordination Chemistry Reviews*, 398, 113009.
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate drug-likeness. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1–3), 3–26.
- Liou, G. Y., & Storz, P. (2010). Reactive oxygen species in cancer. *Free Radical Research*, 44(5), 479–496.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR. *Methods*, 25(4), 402–408.
- Malumbres, M., & Barbacid, M. (2009). Cell cycle, CDKs and cancer. *Nature Reviews Cancer*, 9(3), 153–166.
- Modica-Napolitano, J. S., & Aprille, J. R. (2017). Lipophilic cations as mitochondrial targeting agents. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 49(1), 1–11.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival. *Journal of Immunological Methods*, 65(1–2), 55–63.
- Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural products as sources of new drugs. *Journal of Natural Products*, 83(3), 770–803.
- Nogueira, G., et al. (2018). Antitumor activity of copper-Schiff base complexes. *Chemistry & Biodiversity*, 15(8), e1800210.
- OECD. (2018). *Guidelines for the testing of chemicals: Acute toxicity studies*. OECD Publishing.

- Otto, T., & Sicinski, P. (2017). Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 17(2), 93–115.
- Patel, R., Kaur, G., Singh, A., & Kumar, S. (2021). Recent advances in anticancer activities of Schiff base metal complexes. *Bioorganic Chemistry*, 110, 104764.
- Peer, D., Karp, J. M., Hong, S., Farokhzad, O. C., Margalit, R., & Langer, R. (2007). Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nature Nanotechnology*, 2(12), 751–760.
- Pfeffer, C. M., & Singh, A. T. K. (2018). Apoptosis: A target for anticancer therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2), 448.
- Quail, D. F., & Joyce, J. A. (2013). Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nature Medicine*, 19(11), 1423–1437.
- Quail, D. F., & Joyce, J. A. (2017). The microenvironmental landscape of brain tumors. *Cancer Cell*, 31(3), 326–341.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933–956.
- Stockwell, B. R., et al. (2017). Ferroptosis: A regulated cell death nexus. *Cell*, 171(2), 273–285.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., et al. (2021). Global cancer statistics 2020. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249.
- Tardito, S., & Marchiò, L. (2009). Copper compounds as anticancer agents. *Chemical Reviews*, 109(1), 272–281.

- Torchilin, V. P. (2014). Multifunctional, stimuli-sensitive nanoparticulate systems for drug delivery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 13(11), 813–827.
- Trachootham, D., Alexandre, J., & Huang, P. (2009). Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms. *Nature Reviews Drug Discovery*, 8(7), 579–591.
- Vamathevan, J., et al. (2019). Applications of machine learning in drug discovery and development. *Nature Reviews Drug Discovery*, 18(6), 463–477.
- Vasan, N., Baselga, J., & Hyman, D. M. (2019). A view on drug resistance in cancer. *Nature*, 575(7782), 299–309.
- Vermes, I., Haanen, C., Steffens-Nakken, H., & Reutellingsperger, C. (1995). A novel assay for apoptosis. *Journal of Immunological Methods*, 184(1), 39–51.
- Workman, P., et al. (2017). Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research. *British Journal of Cancer*, 116(6), 732–742.
- Xing, J. Z., Zhu, L., Jackson, J. A., et al. (2005). Dynamic monitoring of cytotoxicity. *Assay and Drug Development Technologies*, 3(2), 167–178.
- Youle, R. J., & Strasser, A. (2008). The BCL-2 protein family. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(1), 47–59.
- Yu, H., Lee, H., Herrmann, A., Buettner, R., & Jove, R. (2014). Revisiting STAT3 signalling in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 14(11), 736–746.
- Zhavoronkov, A., et al. (2019). Deep learning enables rapid identification of potent DDR1 kinase inhibitors. *Nature Biotechnology*, 37(9), 1038–1040.

