

Bitkisel Biyoaktifler ve Redoks Biyolojisi:

Biyokimyasal Mekanizmalar,
İmmünoanalitik
ve Terapötik Yaklaşımlar

Editör

SERAP ÖZER YAMAN



BİDGE Yayınları

**Bitkisel Biyoaktifler ve Redoks Biyolojisi: Biyokimyasal
Mekanizmalar, İmmünoanalitik Ve Terapötik Yaklaşımlar**

Editör: SERAP ÖZER YAMAN

ISBN: 978-625-372-995-0

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

Bu kitap, “Bitkisel Biyoaktifler ve Redoks Biyolojisi: Biyokimyasal Mekanizmalar, İmmünoanalitik ve Terapötik Yaklaşımlar” başlığı altında, alanında uzman akademisyenlerin katkılarıyla hazırlanmış 10 özgün kitap bölümünden oluşmaktadır. Eserde, temel biyokimyasal süreçlerden hücresel ve moleküler mekanizmalara, redoks biyolojisinin fizyolojik ve patolojik rolleri ile bitkisel biyoaktiflerin terapötik potansiyeline kadar geniş bir konu yelpazesi ele alınmıştır.

Kitap bölümlerinde; serbest radikaller ve redoks dengesi, tiyol temelli redoks düzenlenmesi, glikozaminoglikanların yapısal ve biyolojik rolleri, apelin ve metabolik sinyalizasyon, bitkisel biyoaktiflerin antikanser etkileri, immünoanalizlerde interferanslar ile birlikte, günümüzde önemli bir halk sağlığı ve klinik problem olan vitamin D eksikliği; prevalansı, belirleyici faktörleri ve tedavi stratejileri ve hemoglobinin allosterik bir oksijen taşıyıcısı olarak yapısal dinamikleri, enerjetik kooperativitesi ve klinik biyokimyadaki önemi ele alınmaktadır. Bunun yanı sıra, periostin ve endokan gibi hücre dışı matriks ve endotelyal kökenli biyobelirteçlerin oküler hastalıkların patogenezindeki ve klinik kullanımındaki rolleri yer almaktadır. Bu kapsamıyla eser, klinik biyokimya, moleküler biyoloji, farmakoloji ve ilgili sağlık bilimleri alanlarında güncel bilgileri bir araya getirmektedir.

Yazarlar, uzmanlık alanları doğrultusunda ele aldıkları konuları, bilimsel doğruluk ve güncel literatür ışığında; öğrenmeyi kolaylaştıran, anlaşılır ve akıcı bir dil ile sunmaya özen göstermiştir. Kitabın, biyokimya ve ilişkili disiplinlerde çalışan bilim insanlarına katkı sağlaması ve yeni araştırmalara ilham vermesi temennimizdir.

Bu kitabın ortaya çıkmasında emeği geçen tüm değerli bölüm yazarlarına ve basım sürecinde gösterdikleri titiz çalışmadan dolayı Bidge Yayınevi çalışanlarına içtenlikle teşekkür ederim.

Doç. Dr. Serap ÖZER YAMAN
Trabzon Üniversitesi
Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AbD

İÇİNDEKİLER

SERBEST RADİKALLER	1
<i>ELİF DEMİR</i>	
THIOL-BASED REDOX REGULATION: MECHANISMS, BIOLOGICAL ROLES, AND CLINICAL IMPLICATIONS ...	11
<i>MUZAFFER KATAR</i>	
GLİKOZAMİNOGLİKANLAR	26
<i>ELİF DEMİR, ZELİHA DEMİR GİDEN</i>	
BİTKİSEL BİYOAKTİFLERİN APELİN DÜZEYİNE ETKİSİ .	38
<i>MUSTAFA ORHAN TUNÇEL</i>	
MYRTUS COMMUNIS L. (MERSİN) BİTKİSİNİN KİMYASAL ÖZELLİKLERİ, AKTİF BİLEŞENLERİ VE TERAPÖTİK POTANSİYELİ	53
<i>SEFA ÇELİK</i>	
MERSİN BİTKİSİNİN (MYRTUS COMMUNIS L.) ANTİKANSER ETKİNLİĞİ	68
<i>SEFA ÇELİK</i>	
VIAMİN D DEFICIENCY: PREVALENCE, DETERMINANTS, AND TREATMENT STRATEGIES	78
<i>MUZAFFER KATAR</i>	
İMMUNOANALİZLERDE İNTERFERANSLAR	103
<i>AYSUN EKİNCİ</i>	
HEMOGLOBIN AS AN ALLOSTERIC OXYGEN CARRIER: STRUCTURAL DYNAMICS, ENERGETIC COOPERATIVITY, AND CLINICAL IMPLICATIONS	128
<i>ERGİN TAŞKIN</i>	
THE ROLE OF PERIOSTIN AND ENDOCAN IN EYE DISEASE	148

İÇİNDEKİLER

NURDAN GAMZE TAŞLI

BÖLÜM 1

SERBEST RADİKALLER

ELİF DEMİR¹

Giriş

İyonize radyasyon etkisinin kimyasal kademesinde serbest radikaller önemli bir yer tutar. Serbest radikaller iyonların veya uyarılmış moleküllerin ayrılmaları sonucunda oluşan, dış yörüngelerinde eşleşmemiş bir elektrona sahip atom ya da moleküllerdir. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Son derece reaktif moleküller olup, bir başka radikalın aynı durumdaki elektronu ile eşleşerek kararlı hale gelme eğilimleri vardır. Bu sebeple serbest radikaller, elektron alıcı ya da elektron verici özelliklere sahiptir. Serbest radikallerin yaşam süreleri çok kısadır. Serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızı arasında denge bozulmadığı sürece organizma bundan etkilenmemektedir (Halliwell, 1994; Vallyathan & Shi, 1997). Bu denge bozulduğunda, oksidanların arttığı veya antioksidanların yetersiz kaldığı durumlarda organizma oksidatif strese maruz kalır (Demir & ark., 2021). Bunun sonucunda, hücresel

¹ Doç. Dr., Harran Üniversitesi Viranşehir Sağlık Yüksekokulu, Hemşirelik Bölümü, Şanlıurfa/Türkiye, Orcid: 0000-0003-4545-5175

metabolizma işleyişi bozulur, oluşan moleküler yıkım ile kalp, böbrek, karaciğer, mide, akciğer, beyin gibi birçoğu yaşamsal öneme sahip organlarda doku hasarı meydana gelir (Halliwell, 1994; Vallyathan & Shi, 1997).

Aerobik metabolizmada başlıca serbest radikal kaynağının oksijen türevi radikaller oluşturmaktadır. Oksidanlar, reaktif oksijen türleri (ROT), reaktif nitrojen türleri (RNT), sülfür merkezli radikaller vb. moleküllerden oluşurlar. Reaktif oksijen türleri, oksijen merkezli radikaller ve oksijen merkezli non radikaller olarak sınıflandırılabilir. Oksijen merkezli radikaller; süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), $OH^{\cdot-}$, alkoksil ($RO^{\cdot-}$) ve peroksil radikalidir ($ROO^{\cdot-}$). Oksijen merkezli non radikaller ise H_2O_2 ve singlet oksijendir (1O_2). Reaktif nitrojen türleri ise nitrik oksit ($NO^{\cdot}$), nitrik dioksit ($NO_2^{\cdot-}$) ve peroksinitrit ($OONO^{\cdot-}$) gibi nitrit türevleridir (Çavdar & ark., 1997; Akkus, 1997; Lee & ark., 2004).

Radikal kavramından bahsedildiğinde genel olarak oksijen merkezli radikaller akla gelir. Bu kavramın başlıca gerekçeleri şunlardır.

1. Diğer atom merkezli radikaller büyük bir hızla oksijenle tepkimeye girerler ve tepkimede paylaşılmamış elektron oksijen atomu üzerine kayar ve böylece radikal özelliği oksijen atomu üzerinde devam eder.

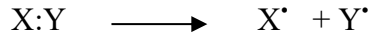
2. Moleküler oksijen hücrelerde devamlı olarak kullanılmaktadır. Oksijeni kullanabilmek için elektron transferi ile spin kısıtlamasının aşılması gerekir. Bu nedenle de oksijen metabolizması sırasında reaktif radikal türlerinin oluşması kaçınılmazdır.

3. Elektrofilik bir atom olan oksijen, dış orbitaline elektron alarak biyomolekülleri oksitler. Bu sırada kendisinin radikal türleri oluşur. Metal iyonları oksijenin bu tür oksitleyici etkilerini hızlandırırlar (Kılınç & Kılınç, 2002).

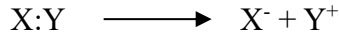
1. Serbest Radikaller Nasıl Oluşur

İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal yapımı vardır. Hücre içerisinde de gerek metabolik faaliyetler sonucu gerekse başka nedenlerden dolayı sürekli olarak radikaller üretilmektedir. Nerede ve nasıl üretildiklerine bakılmaksızın radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşmaktadır.

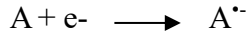
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan her birinin bir molekülde kalarak homolitik bölünmesi.



2. Normal molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomların birinde kalırlar. Böylece serbest radikaller değil, iyonlar meydana gelirler.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi.



Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler (Akkus, 1997; Kılınç & Kılınç, 2002). Vücutta üretilen radikaller her zaman tehlikeli kimyasal türler olarak değerlendirilmemelidir. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için reaktif formlarına çevrilmesi zorunludur. Örneğin, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, steroid yapıdaki bileşikler ile eikozanoidler gibi biyolojik aktif moleküllerin sentezi, pek çok oksidaz ve hidroksilaz enzimlerin etkileri ile sitotoksik etkilere sahip hücrelerin fonksiyonları için radikal yapımına ihtiyaç vardır. Oksijen radikalları gibi, nitrik oksit radikalının yapımı da önemlidir. Bu radikallerin ne kadar iyi ya da ne kadar kötü olduklarını belirleyen faktör, nerede ve ne kadar üretildiklerine bağlıdır. Biyolojik ihtiyacın

üzerinde üretilen radikaller toksik etkilerden sorumludurlar. Çevresel faktörler, vücuda alınan çeşitli kimyasal bileşikler, çeşitli enfeksiyonlar, doku travmaları ve pek çok sayıdaki patolojik durumlar vücutta radikal yapımında artışa neden olmaktadır. Düşük miktarda radikal yapımının etkileri yaşlanma şeklinde görülürken, yüksek miktarda ve yaygın radikal yapımını etkileri kısa sürede ve ciddi bir patolojik durum olarak ortaya çıktığı ifade edilmektedir (Kılınç & Kılınç, 2002).

En Önemli Serbest Oksijen Radikalleri Şunlardır (Burçak & Andican, 2004).

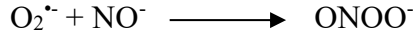
1. $O_2^{\cdot-}$ radikali
2. H_2O_2
3. $HO^{\cdot}$ radikali
4. Singlet Oksijen ($^1O_2\uparrow\downarrow$)

1.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Canlılarda olduğu ilk gösterilen radikaldır. Hemen hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur (Halliwell, 1994). Serbest bir radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak fazla zarar vermez (Akkus, 1997). Süperoksit radikali, H_2O_2 , $HO^{\cdot}$ veya 1O_2 gibi diğer reaktif oksijen türlerinin oluşumunda önemli bir rol oynar (Lee & ark., 2004). Süperoksit radikali mitokondrilerde direkt olarak otooksidasyon sırasında veya enzimatik olarak ksantin oksidaz (XO), sitokrom P_{450} ve diğer oksidazlar tarafından üretilir. Süperoksit radikali, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aracılığıyla veya spontan olarak süratle H_2O_2 'e inaktive edilir (Vallyathan & Shi, 1997). Süperoksit radikali mitokondriyal elektron transfer zincirinde redükte nikotinamid adenin diükletid (NADH)'ın okside nikotinamid adenin nükleotid (NAD)'e okside olması ile de oluşmaktadır. Ayrıca pek çok oksidaz enzimler tarafından da üretilir. Süperoksit radikali genel olarak

anyon şeklinde tarif edildiği halde, ortamın pH'ına bağlı olarak protanlanarak katyon şeklinde dönüşebilir. Bu durumda perhidroksi radikali ($\text{HO}_2^\bullet$) ismini alır (Memişoğulları, 2005). Bu radikal de çok reaktif olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu (LPO) başlatabilir. $\text{O}_2^\bullet$ ile $\text{HO}_2^\bullet$ reaksiyona girince, biri okside olurken diğeri indirgenir. Bu reaksiyon sonucunda O_2 ve H_2O_2 meydana gelir (Akkus, 1997; Kılınç & Kılınç, 2002).

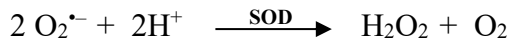
Süperoksidin, fizyolojik bir serbest radikal olan NO^- ile birleşmesi sonucu da reaktif bir nitrojen türevi olan ONOO^- meydana gelir.



Oluşan ONOO^- doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır ve azot dioksit (NO_2^-), $\text{OH}^\bullet$ radikali ve nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi daha başka toksik ürünlere dönüşebilir. Süperoksit radikali ayrıca geçiş metallerinin otooksidasyonu sonucunda da meydana gelebilir (Akkus, 1997).

1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit molekülü eşleşmemiş elektron taşımaz ve bu yüzden de radikal değildir (Halliwell, 1994; Lee & ark., 2004). H_2O_2 oksijen molekülünün başka bir molekülden iki elektron alarak peroksit oluşturmaktan ve peroksit molekülünün de iki H molekülü ile birleşmesiyle oluşur (Lee & ark., 2004; Memişoğulları, 2005). Ancak biyolojik sistemlerde H_2O_2 asıl üretimi $\text{O}_2^\bullet$ dismutasyonu ile olur. İki $\text{O}_2^\bullet$ iki proton alarak H_2O_2 ve moleküler oksijeni oluşur (Halliwell, 1994; Kılınç & Kılınç, 2002).

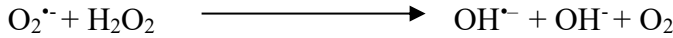
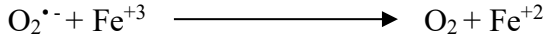


Hidrojen peroksit, reaktif oksijen türleri arasında en az reaktif olanıdır ve ortamda metal iyonları yoksa fizyolojik pH ve ısıda stabildir. Hidrojen peroksit zayıf bir okside edici ve indirgeyici ajandır. Bu nedenle daha zayıf bir reaktif molekül olarak olarak

değerlendirilir. Hidrojen peroksit, metal iyonları ve $O_2^{\bullet-}$ varlığında $OH^{\bullet-}$ üretebilir.



Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir (Lee & ark., 2004; Burçak & Andican, 2004). Haber-Weiss reaksiyonu katalizörlü veya katalizörsüz oluşabilir. Katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerler ve katalizör olmayınca ortamdaki H_2O_2 ve $O_2^{\bullet-}$ antioksidanlar tarafından kolayca detoksifiye edilirler. Demir gibi geçiş metalleri ile katalizlenen ikinci şekli ise çok hızlıdır. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe^{+3}), $O_2^{\bullet-}$ tarafından ferro demire (Fe^{+2}) indirgenir. Sonra bu ferro demir kullanılarak "Fenton Reaksiyonu" ile H_2O_2 'den $OH^{\bullet-}$ ve OH^- üretilir. Reaksiyon mekanizması aşağıdaki şekildedir (Kılınç & Kılınç, 2002; Memişoğulları, 2005).



1.3. Hidroksil Radikali ($OH^{\bullet-}$)

Hidroksil radikali en reaktif radikaldır. Bu yüzden canlı organizmada üretildiğinde oluşum yerinin yakınındaki moleküllerle tepkiye girer. Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretebilen $OH^{\bullet-}$ canlılarda iki mekanizma ile oluşabilir.

1- Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur.

2- Hidrojen peroksitin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle meydana gelir.

Hidroksil radikali, lipid, polipeptid, protein, DNA ve diğer moleküllerle reaksiyona girer. Özellikle nükleik asitlerdeki tiamin ve guanozin bazlarıyla reaksiyona girerek başka radikaller oluşturmaktadır. Canlılarda $\text{OH}^{\bullet}$ lipidlerle reaksiyona girerek LPO'nu başlatır. LPO ise hücre zarı yapısını bozarak hücre disfoksiyonuna neden olmaktadır (Memişoğulları, 2005; Akkus, 1997; Kılınç & Kılınç, 2002).

1.4. Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)

Singlet oksijen, bir non radikaldir. Yapısında iki adet eşleşmemiş elektron taşır. Oksijen molekülündeki aynı yöne dönen iki elektrona sahip 2p son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektron, bir orbitali bırakıp diğerine geçtiğinde veya farklı yönde döndüğünde "singlet oksijen" oluşur (Halliwell, 1994; Lee & ark., 2004). Başlıca şu mekanizmalarla vücutta oluşabilir.

- a) Pigmentlerin (örneğin flavin içeren nükleotidler, retinal, bilirubin) oksijenli ortamda ışığı absorplamasıyla,
- b) Hidroperoksitlerin metaller varlığındaki yıkım tepkimelerinde,
- c) Kendiliğinden dismutasyon tepkimeleri sırasında (örneğin fagozom içinde),
- d) Prostoglandin endoperoksit sentaz, bazı sitokrom P_{450} tepkimelerinde, miyelo/kloro/ laktoperoksidaz enzimlerinin etkileri sırasında.

Singlet oksijen diğer moleküllerle etkileştiğinde ya içerdiği enejiyi transfer eder, ya da kovalent tepkimelere girer. Özellikle karbon-karbon çift bağları $^1\text{O}_2$ 'nin tepkimeye girdiği bağlardır. Singlet oksijen hücre membranındaki poliansatüre yağ asitleriyle doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksitlerin oluşumuna yol açar (Çavdar & ark., 1997; Kılınç & Kılınç, 2002).

1.5. Reaktif Nitrojen Türleri (NO[•], NO₂, NO⁺)

Nitrik oksit, tek bir eşlenmemiş elektrona sahip olan bir serbest radikaldir. Paylaşılmamış elektron aslında nitrojen atomuna ait ise de, bu elektronun hem nitrojen hem de oksijen atomu üzerinde delokalize olması nedeniyle tam radikal özelliği taşımaz. Bunun sonucu, bilinen diğer radikallere göre reaktivitesi baskılandığından oldukça uzun ömürlüdür. (Pham-Huy & ark., 2008; Marletta 1993). Nitrik oksit sinir iletimi, kan basıncı düzenlenmesi, savunma mekanizması, kas gevşemesi ve bağışıklık düzenlenmesi gibi çok çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir sinyal molekülü olarak hareket eden bir radikaldir. Düşük konsantrasyonlarda iken, ortamda oksijen varlığında dahi stabilitesini koruyabilen NO[•], bilinen en düşük molekül ağırlıklı, biyoaktif memeli hücresi sekresyon ürünüdür (Marletta 1993). Bu radikal damar endotel hücrelerinde Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenir. Nitrik oksit sentazın birçok izoformu tanımlanmıştır. Nitrik oksit hem sulu hem de yağlı ortamda çözülebilir olduğu için sitoplazma ve plazma zarlarından kolaylıkla geçebilir. Nitrik oksit bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranarak LPO'nu engeller. Bununla birlikte O₂^{•-} düzeylerinin arttığı durumlarda O₂^{•-} reaksiyona girer ve bir prooksidan olan OONO⁻'in oluşmasına sebep olmaktadır (Kılınç & Kılınç, 2002, Marletta 1993).

1.6. Peroksinitrit (OONO⁻)

Nitrik oksit ile süperoksidin reaksiyon ürünü olan peroksinitrit çok kısa yarı ömürlü ancak oksidatif doku hasarına neden olan son derece reaktif bir moleküldür (Memişoğulları, 2005; Akkus, 1997). Hidroksil radikali benzeri aktiviteye sahip olup radikalik tepkimeleri başlatmakla birlikte biyomoleküllerin nitrasyonuna da neden olur (Kılınç & Kılınç, 2002).

2. Serbest Radikallerin Kaynakları

Başlıca serbest radikal kaynaklarını şu şekilde sınıflandırılır (Akkus, 1997; Çavdar & ark., 1997; Akkus, 1997).

Endojen Kaynaklar:

- Mitokondrial elektron transport zinciri
- Redoks Döngüsü
- Araşidonik asit metabolizması
- Fagositik Hücreler (monosit ve makrofajlar vs) ve endotelial hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar
- Ksantin oksidaz, NADPH oksidaz vs.enzimler
- Otooksidasyon reaksiyonları

Ekzojen Kaynaklar:

- Diyet fakörleri
- Çevresel faktörler (hava kirliliği)
- İlaçlar, ksenobiyotikler
- Sigara ve alkol
- Zararlı ışınlar (x-ray, U.V.)

Kaynakça

Akkus D. (1995). *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayınları*, Kuzucular ofset. 3-25.

Burçak G, Andican G. (2004). Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. *Cerrahpasa Tıp Fakültesi Dergisi*. 35:159-69.

Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. (1997). Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*. 34:92-95.

Demir E, Giden R, Sak ZHA & Demir Giden Z. (2021). Thiol-disulphide homoeostasis as a novel oxidative stress biomarker in lung tuberculosis patient. *International Journal of Clinical Practice*. 75(5), e13998.

Halliwell B. (1994). Free Radicals and Antioxidants: A Personal View. *Nutrition Reviews*. 52(8):253-265.

Kılınç K, Kılınç A. (2002). Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 33:110-118.

Lee J, Koo N, Min DB. (2004). Reactive oxygen species, aging and antioxidative nutraceuticals comprehensive. *In Food Science And Food Safety*. 3:37-47.

Memişoğulları R. (2005). Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Dicle Tıp Fakültesi Dergisi*. 3:30-39.

Marletta MA. (1993). Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J. Biol. Chem*. 268(7):123-5.

Pham-Huy AL, He H, Pham-Huyc C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*. 4(2):89-96.

Vallyathan V, Shi X. (1997). The Role of Oxygen free radicals in occupational and environmental lung diseases. *Environ Health Perspect*. 105: 65-177.

BÖLÜM 2

THIOL-BASED REDOX REGULATION: MECHANISMS, BIOLOGICAL ROLES, and CLINICAL IMPLICATIONS

Muzaffer KATAR1

Introduction

Thiol-based redox regulation is a cornerstone of cellular homeostasis, integrating bioenergetics, signaling, antioxidant defense, and metabolic control. Among biomolecules, thiols—particularly cysteine (Cys) residues in proteins and low-molecular-weight thiols such as glutathione (GSH)—possess unique chemical properties that make them highly reactive toward reactive oxygen species (ROS), electrophiles, and redox-active metabolites. Reversible thiol oxidation and reduction constitute a central mechanism through which cells sense and respond to environmental and intracellular stress.

The early concept of oxidative stress—defined as an imbalance between oxidants and antioxidants—has evolved

¹ Doçent Doktor, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Tıbbi Biyokimya A.D., Orcid: 0000 0002 6296 2390

significantly. Modern redox biology recognizes that many regulatory redox events are radical-independent, mediated instead through controlled production of peroxides, electrophiles, and redox couples. This “radical-free” paradigm forms the foundation of contemporary redox signaling.

Ageing, metabolic diseases, inflammation, cancer, and neurodegeneration all involve dysregulated thiol chemistry. As highlighted in recent clinical research, impaired thiol-disulfide homeostasis emerges early in metabolic dysfunction—even in childhood obesity—suggesting thiol imbalance is not only a marker but also a mechanistic driver of disease processes.

Chemical Properties of Biological Thiols: Cysteine is unique among amino acids due to its sulfhydryl ($-SH$) side chain, which exists in equilibrium with its deprotonated thiolate (S^-) form. The thiolate is a potent nucleophile with high reactivity toward oxidants and electrophiles.

Biological thiols undergo reversible and irreversible oxidative modifications, including sulfenylation, nitrosylation, glutathionylation, and disulfide bond formation.

Radical-Free Biology of Oxidative Stress: Modern redox biology demonstrates that non-radical species—especially hydrogen peroxide (H_2O_2)—are the primary mediators of redox signaling. H_2O_2 selectively oxidizes reactive thiols, regulating transcription factors, metabolic enzymes, and phosphatases.

Thiol-Based Redox Systems: Major thiol systems include the GSH/GSSG system, thioredoxin system, peroxiredoxins, and glutaredoxins. These systems govern cellular antioxidant defense, protein structure, and redox signaling.

Thiol-Dependent Redox Signaling in Ageing: Ageing is characterized by chronic low-level oxidative stress and progressive

thiol oxidation. Declines in mitochondrial GSH contribute to impaired respiration, increased apoptosis susceptibility, and protein misfolding.

Thiol-Disulfide Homeostasis in Metabolic Disorders: Clinical studies reveal profound thiol dysregulation in obesity and metabolic syndrome, including decreased GSH and cysteinyl-glycine, elevated homocysteine, and increased oxidative stress markers.

Clinical Implications of Thiol Biology: Thiol-disulfide balance serves as a biomarker for cardiovascular risk, metabolic dysfunction, oxidative stress burden, and inflammatory status.

Analytical approaches include HPLC, mass spectrometry, redox Western blotting, and total antioxidant capacity assays.

Therapeutic Modulation of Thiol Redox Pathways: Interventions include precursor supplementation (NAC, cysteine, glycine), dietary modification, Nrf2 activation, and mitochondrial thiol antioxidants.

Emerging fields include redox omics, single-cell redox biology, personalized redox medicine, and advanced thiol detection technologies.

Thiol-based regulation underlies key processes in signalling, metabolism, ageing, and disease. Understanding thiol chemistry provides a unifying framework for interpreting oxidative stress, metabolic dysfunction, and therapeutic opportunities.

Thiol-based redox regulation is a cornerstone of cellular homeostasis, integrating bioenergetics, signaling, antioxidant defense, and metabolic control (Obita & Alkhatib, 2022). Among biomolecules, thiols—particularly cysteine (Cys) residues in proteins and low-molecular-weight thiols such as glutathione (GSH)—possess unique chemical properties that make them highly

reactive toward reactive oxygen species (ROS), electrophiles, and redox-active metabolites. Reversible thiol oxidation and reduction constitute a central mechanism through which cells sense and respond to environmental and intracellular stress (Lobstein et al., 2015).

The early concept of oxidative stress—defined as an imbalance between oxidants and antioxidants—has evolved significantly. Modern redox biology recognizes that many regulatory redox events are **radical-independent**, mediated instead through controlled production of peroxides, electrophiles, and redox couples. This “radical-free” paradigm forms the foundation of contemporary redox signaling (Usman et al., 2021).

Ageing, metabolic diseases, inflammation, cancer, and neurodegeneration all involve dysregulated thiol chemistry. As highlighted in recent clinical research, impaired thiol-disulfide homeostasis emerges early in metabolic dysfunction—even in childhood obesity—suggesting thiol imbalance is not only a marker but also a mechanistic driver of disease processes (Organization, 2020). For example, children with obesity display decreased GSH and Cys-Gly, increased homocysteine (Hcy), and elevated oxidative stress markers, demonstrating that thiol-based redox dysregulation manifests early in life (Keane, Cruzat, Carlessi, de Bittencourt Jr, & Newsholme, 2015).

This chapter synthesizes fundamental mechanisms of thiol chemistry, integrates cutting-edge concepts in radical-free oxidative signaling, and contextualizes thiol biology in ageing and metabolic diseases.

a. Chemical Properties of Biological Thiols

- Structure and reactivity of cysteine residues

Cysteine is unique among amino acids due to its sulfhydryl (–SH) side chain, which exists in equilibrium with its deprotonated thiolate (S[–]) form. The thiolate is a potent nucleophile with high

reactivity toward oxidants and electrophiles. Protein microenvironments modulate the pKa of cysteine, often lowering it to promote thiolate formation under physiological conditions.

- Oxidation states of thiols

Biological thiols undergo a spectrum of reversible and irreversible oxidative modifications (Lind et al., 2018):

1. Reversible:

S-sulfenylation (–SOH)

S-nitrosylation (–SNO)

S-glutathionylation (–SSG)

Disulfide bond formation (protein–protein or protein–GSH)

2. Irreversible:

Sulfination (–SO₂H)

Sulfonation (–SO₃H)

Often associated with chronic oxidative damage and ageing. Reversible thiol oxidation–reduction serves as a regulatory switch controlling enzyme activity, receptor function, and transcriptional networks (Pastore et al., 2012).

- Low-molecular-weight thiols

Key intracellular thiols include (Pastore et al., 2022):

Reduced glutathione (GSH): primary redox buffer

Cysteine (Cys): precursor for GSH synthesis

Cysteinyl-glycine (Cys-Gly): GSH breakdown intermediate

Homocysteine (Hcy): methionine cycle intermediate linked to metabolic and cardiovascular risk

Clinical data show that disturbances in these thiols reflect altered metabolic and redox status, particularly in obesity where Cys-Gly and GSH are markedly reduced and Hcy levels elevated (Pastore et al., 1998).

b. Radical-Free Biology of Oxidative Stress

Classical oxidative stress frameworks emphasized free radical damage (e.g., hydroxyl radicals). Modern redox biology demonstrates that non-radical species—especially hydrogen peroxide (H_2O_2)—are the primary mediators of redox signaling (Blachier, Andriamihaja, & Blais, 2020).

- H_2O_2 as a signaling molecule

Hydrogen peroxide:

Is produced by controlled enzymatic pathways (NADPH oxidases, mitochondria).

Diffuses across membranes.

Selectively oxidizes reactive thiols, particularly on transcription factors and phosphatases.

This selective oxidation underlies pathways such as:

Nrf2 activation

Inhibition of protein tyrosine phosphatases

Redox regulation of metabolic enzymes

Electrophilic lipids and metabolic intermediates

Electrophiles form Michael adducts with thiols, acting as endogenous signals but also contributing to oxidative stress when dysregulated (Bajic et al., 2019).

Examples:

4-Hydroxynonenal (4-HNE)

Cyclopentenone prostaglandins

Products of lipid peroxidation

- Redox potentials and compartmentalization

Different cellular compartments maintain distinct GSH/GSSG ratios and redox potentials, enabling precise regulation of thiol-dependent processes.

- Dynamic thiol-disulfide exchange

Protein thiols undergo continuous exchange with cellular GSH pools through enzymatic (glutaredoxin-mediated) and non-enzymatic mechanisms (Bajic et al., 2019; Nguyen, Samson, Reddy, Gonzalez, & Sekhar, 2013).

Together, these radical-free reactions orchestrate cellular adaptation, proliferation, and stress resistance.

c. Thiol-Based Redox Systems

- Glutathione (GSH/GSSG) system

Glutathione is the most abundant intracellular thiol (Nguyen et al., 2013).

Functions include:

Detoxifying peroxides via **glutathione peroxidase (GPx)**

Regeneration via **glutathione reductase (GR)**

Protection of proteins through S-glutathionylation

Maintaining redox homeostasis

In the obesity study:

GSH was significantly reduced in children with obesity ($6.06 \pm 2.45 \mu\text{mol/L}$) vs controls

This suggests impaired redox buffering and increased oxidative burden.

- Thioredoxin (Trx) system

The Trx/TrxR system controls (Alves, Bassot, Bulteau, Pirola, & Morio, 2019):

DNA synthesis

Antioxidant responses

Apoptosis regulation

- Peroxiredoxins (Prx)

Serve as highly sensitive H_2O_2 sensors.
Act as “redox relays” transmitting oxidative signals to target proteins through thiol exchange.

- Glutaredoxins (Grx)

Critical for reversible **S-glutathionylation** regulation.

- Thiol-Dependent Redox Signaling in Ageing

Ageing is characterized by chronic low-level oxidative stress and progressive thiol oxidation (Nguyen et al., 2013).

d. Decline in GSH with age

Mitochondrial GSH decreases with age, contributing to:

Impaired mitochondrial respiration

Accumulation of damaged proteins

Increased susceptibility to apoptosis

- Redox modulation of ageing pathways

Key targets include:

FOXOs (longevity factors)

NF-κB (inflammation)

Nrf2 (antioxidant gene expression)

- Cysteine oxidation and proteostasis

Protein misfolding increases as thiol-based chaperones become oxidized. Overall, thiol redox imbalance is both a hallmark and a driver of biological ageing.

e. Thiol-Disulfide Homeostasis in Metabolic Disorders

- Insights from pediatric obesity

The clinical study of 283 pediatric patients revealed profound alterations in thiol metabolism (Tobisch, Blatniczky, & Barkai, 2015):

Lower Cys-Gly (glutathione synthesis intermediate)

Lower GSH

Higher Hcy

Higher oxidative stress markers (T-BARS, 8-isoprostane, protein carbonyls)

Lower total antioxidants

This indicates:

Increased utilization and insufficient synthesis of GSH

Early onset metabolic stress

f. Association between thiol imbalance and insulin resistance

- Mechanistic interpretation

1. Glycine deficiency

Glycine availability limits GSH synthesis; obesity is associated with reduced glycine—explaining low GSH despite elevated Cys.

2. Excess ROS formation

Elevated T-BARS and 8-isoprostane suggest lipid peroxidation injury.

3. Insulin resistance link

Positive correlations between BMI, insulin, HOMA-IR, and thiol parameters (e.g., Hcy, Cys) were observed.

- Homocysteine and metabolic risk

High Hcy is associated with:

Cardiovascular dysfunction

Endothelial injury

Perturbed methylation and epigenetics

The study demonstrates that even children with obesity show significantly elevated Hcy ($10.00 \pm 4.43 \mu\text{mol/L}$)

g. Clinical Implications of Thiol Biology(Elmas et al., 2017)

- Biomarker potential

1. GSH/GSSG ratio reflects metabolic stress and antioxidant capacity.
2. Plasma thiol/disulfide status predicts cardiovascular risk.
3. Hcy is a sensitive marker of one-carbon metabolism disturbances.

- Disease associations

1. Obesity and metabolic syndrome
2. Type 2 diabetes
3. Non-alcoholic fatty liver disease
4. Neurodegenerative disorders
5. Cancer progression
- Predictive and diagnostic use

Thiol-based markers may detect metabolic imbalance before overt disease develops.

- h. Methods for Measuring Thiol Status (Elmas et al., 2017)
- High-performance liquid chromatography (HPLC)

Used in the referenced obesity study:

1. detects Cys, Cys-Gly, GSH, Hcy
2. fluorescence detection (exc. 390 nm; em. 478 nm)
3. separation using Hypersil ODS columns
- Mass spectrometry

Highly sensitive for protein thiol modifications.

- Redox Western blot

Tracks oxidized vs reduced forms of Trx, Prx, and GSH-bound proteins.

- Total antioxidant capacity assays

Reflect global redox capacity but lack specificity.

- i. Therapeutic Modulation of Thiol Redox Pathways

- Precursor supplementation

1. Cysteine (e.g., NAC)

2. Glycine

Clinical and experimental evidence indicates precursor supplementation restores GSH and improves mitochondrial function (Pastore, Federici, Bertini, & Piemonte, 2003).

The pediatric obesity study concludes that GSH deficiency *may be restored through dietary supplementation*, offering a low-cost intervention strategy

- Diet and lifestyle

Anti-inflammatory diets improve oxidative stress markers (Sekhar et al., 2011). Early nutritional intervention in children may prevent long-term metabolic damage.

- Pharmacological regulators

1. Nrf2 activators
2. Redox-modulating drugs in clinical trials
3. Mitochondria-targeted thiol antioxidants

Future Directions

Integration of proteomics, metabolomics, and redox mapping will identify disease-specific thiol fingerprints. Revealing heterogeneity in redox states within tissues. Using thiol profiles to tailor antioxidant and metabolic therapies. Improved thiol detection tools will refine our understanding of dynamic redox networks.

Conclusion

Thiol-based redox regulation lies at the heart of cellular signaling, metabolic control, and defence against oxidative stress.

The radical-free model of oxidative biology has reframed our understanding of H₂O₂ and electrophile-driven signaling, while thiol

modifications serve as key molecular switches orchestrating cellular responses.

Clinical evidence—including the pediatric obesity study—demonstrates that thiol dysregulation manifests early, long before overt disease, highlighting its value as a biomarker and therapeutic target. Reduced GSH and Cys-Gly, elevated Hcy, and increased oxidative stress collectively indicate a compromised redox environment that can drive metabolic and inflammatory disorders throughout life.

Understanding thiol chemistry thus provides a unifying framework connecting ageing, oxidative stress, metabolism, and disease—and offers new opportunities for intervention, prevention, and personalized medicine.

References

Alves, A., Bassot, A., Bulteau, A.-L., Pirola, L., & Morio, B. (2019). Glycine metabolism and its alterations in obesity and metabolic diseases. *Nutrients*, *11*(6), 1356.

Bajic, V. P., Van Neste, C., Obradovic, M., Zafirovic, S., Radak, D., Bajic, V. B., . . . Isenovic, E. R. (2019). Glutathione “redox homeostasis” and its relation to cardiovascular disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2019*(1), 5028181.

Blachier, F., Andriamihaja, M., & Blais, A. (2020). Sulfur-containing amino acids and lipid metabolism. *The Journal of nutrition*, *150*, 2524S-2531S.

Elmas, B., Karacan, M., Dervisoglu, P., Kosecik, M., İşgüven, Ş., & Bal, C. (2017). Dynamic thiol/disulphide homeostasis as a novel indicator of oxidative stress in obese children and its relationship

with inflammatory-cardiovascular markers. *Anatolian journal of cardiology*, 18.

Keane, K. N., Cruzat, V. F., Carlessi, R., de Bittencourt Jr, P. I. H., & Newsholme, P. (2015). Molecular events linking oxidative stress and inflammation to insulin resistance and β -cell dysfunction. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015(1), 181643.

Lind, M. V., Lauritzen, L., Vestergaard, H., Hansen, T., Pedersen, O., Kristensen, M., & Ross, A. (2018). One-carbon metabolism markers are associated with cardiometabolic risk factors. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 28(4), 402-410.

Lobstein, T., Jackson-Leach, R., Moodie, M. L., Hall, K. D., Gortmaker, S. L., Swinburn, B. A., . . . McPherson, K. (2015). Child and adolescent obesity: part of a bigger picture. *The Lancet*, 385(9986), 2510-2520.

Nguyen, D., Samson, S. L., Reddy, V. T., Gonzalez, E. V., & Sekhar, R. V. (2013). Impaired mitochondrial fatty acid oxidation and insulin resistance in aging: novel protective role of glutathione. *Aging cell*, 12(3), 415-425.

Obita, G., & Alkhatib, A. (2022). Disparities in the prevalence of childhood obesity-related comorbidities: a systematic review. *Frontiers in Public Health*, 10, 923744.

Organization, W. H. (2020). News-room fact-sheets detail obesity and overweight. *Online*, URL: <https://www.who.int/newsroom/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.

Pastore, A., Ciampalini, P., Tozzi, G., Pecorelli, L., Passarelli, C., Bertini, E., & Piemonte, F. (2012). All glutathione forms are depleted in blood of obese and type 1 diabetic children. *Pediatric diabetes*, 13(3), 272-277.

Pastore, A., Federici, G., Bertini, E., & Piemonte, F. (2003). Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clinica chimica acta*, 333(1), 19-39.

Pastore, A., Massoud, R., Motti, C., Russo, A. L., Fucci, G., Cortese, C., & Federici, G. (1998). Fully automated assay for total homocysteine, cysteine, cysteinylglycine, glutathione, cysteamine, and 2-mercaptopropionylglycine in plasma and urine. *Clinical chemistry*, 44(4), 825-832.

Pastore, A., Panera, N., Mosca, A., Caccamo, R., Camanni, D., Crudele, A., . . . De Vito, R. (2022). Changes in total homocysteine and glutathione levels after laparoscopic sleeve gastrectomy in children with metabolic-associated fatty liver disease. *Obesity surgery*, 32(1), 82-89.

Sekhar, R. V., McKay, S. V., Patel, S. G., Guthikonda, A. P., Reddy, V. T., Balasubramanyam, A., & Jahoor, F. (2011). Glutathione synthesis is diminished in patients with uncontrolled diabetes and restored by dietary supplementation with cysteine and glycine. *Diabetes Care*, 34(1), 162-167.

Tobisch, B., Blatniczky, L., & Barkai, L. (2015). Cardiometabolic risk factors and insulin resistance in obese children and adolescents: relation to puberty. *Pediatric obesity*, 10(1), 37-44.

Usman, M., Woloshynowych, M., Britto, J. C., Bilkevic, I., Glassar, B., Chapman, S., . . . Tewfik, I. (2021). Obesity, oxidative DNA damage and vitamin D as predictors of genomic instability in children and adolescents. *International Journal of Obesity*, 45(9), 2095-2107.

BÖLÜM 3

GLİKOZAMİNOGLİKANLAR

1. Elif DEMİR¹

2. Zeliha DEMİR GİDEN²

Giriş

Glikozaminoglikanlar (GAG), tekrarlayan disakkarit ünitelerinin düz polimerlerinden oluşmuş bileşiklerdir. Heteropolisakkaritlerdeki tekrarlayan birimlerde aminoşekerler bulunduğu için bunlara glikozaminoglikan denir. Heteropolisakkaritler, canlılardaki hücreler arası boşluğu doldururarak dışarıdan destek sağlarlar. GAG'daki yapıya ek olarak sülfat iyonu eklenmiştir. GAG, negatif yüklü heteropolisakkarit zincirleri ile küçük miktarda çekirdek proteinden oluşan polianyonik büyük kompleks yapılardır. Her polisakkarid zinciri N-Asetil-D-Glukozamin (GlcNAc) ya da N-Asetil D-Galaktozamin (GalNAc)den oluşan çoğunlukla dallanmamış ve yaklaşık 50 - 1000 arası değişen oranlarda tekrarlayan disakkarit birimlerinden oluşur (Şekil 1.) (Murray, 1993).

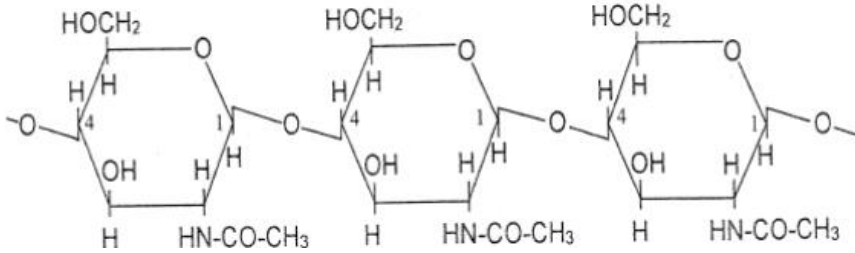
GAG'lar, ait oldukları dokularda kısmen de olsa proteine bağlı bir şekilde ve mukoprotein halinde bulunurlar. GAG'da sülfat grupları ve üronik asit kalıntılarının karboksilat grupları, moleküle

¹ Doç. Dr., Harran Üniversitesi Vanşehir Sağlık Yüksekokulu, Hemşirelik Bölümü, Şanlıurfa/Türkiye, Orcid: 0000-0003-4545-5175

² Doktor Öğr. Üyesi, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları, Orcid: 0000-0002-1476-0073

çok yüksek bir negatif yük yoğunluğu verir. Bu moleküller, çözeltide komşu yüklü gruplar arasındaki itme gücünü en aza indirmek için uzamış bir yapı alırlar; bunun sonucu olarak da bu uzun ve ince moleküllerin çözeltilerinin viskozitesi çok yüksektir (Demir, 2007).

Şekil 1. Tekrarlayan disakkarid birimleri.



N-Asetil-D-glukozamin N-Asetil-D-glukozamin N-Asetil-D-glukozamin

Heteropolisakkarit zincirlerinin proteinlere kovalent bağlanmasıyla proteoglikan (PG) oluşur. PG'ler, ilk tanımlandıklarında da geçmiş literatürde mukopolisakkarit adı verilmekteydi. PG'lerin makro moleküler yapısında % 95'den fazla karbonhidrat ve % 5 kadar protein bulunur. Bu nedenle proteoglikanların özellikleri, proteinlerden çokpolisakkaridlere benzemektedir. Bu zincirlerin her biri 100 ya da daha fazla monosakkarit içerir ve çekirdekte bulunan proteinden dışa doğru uzanır. Başka bir ifadeyle proteoglikanı oluşturan bu polisakkarit zincirlerine GAG'da denir. PG, ekstrasellüler matriksin meydana gelmesinde kollajen, elastin, fibronektin, laminin ve benzer proteinlerle birlikte rol alırlar. PG'lerin bulunduğu yere ve yapılarındaki GAG'ların farklılığına göre vücutta destek, ağırlık taşınması, hücre migrasyonu, filtrasyon gibi görevlerde yer alırlar (Smith & ark., 1988; Shcwartz, 1986; Stryer, 1988; Güner, 1999).

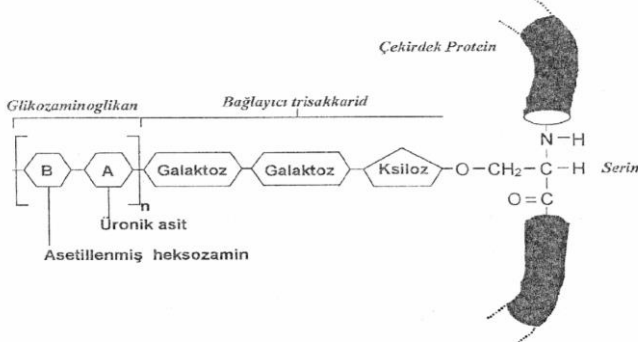
Monosakkaritler; fizyolojik pH'da negatif yüklü olan karboksil grupları ve sülfat gruplarıyla GAG'a yüksek oranda polianyonik özellik kazandırmaktadır. Bu yapı sayesinde yüksek

oranda Na^+ ve su absorpsiyonu ile GAGs yüksek viskozite ve esneklik gösteren koyu kıvamlı, kaygan çözelti ya da jeller oluştururlar. Bunun sonucunda GAG, bağ dokusunun desteklenmesi ve kayganlaştıncı özellik almasında önemli bir görev üstlenirler. Aynı zamanda osmotik basınç aracılığıyla ekstrasellüler matrikse suyu çekerek vücuttaki su-elektrolit dengesine ve bazal membranlarda filtrasyon fonksiyonlarına katkıda bulunmaktadır (Smith & ark., 1988; Shcwartz, 1986; Stryer, 1988; Güner, 1999; Chanpe & Harvey, 1997).

GAG ve bunların yapılarındaki çekirdek proteine bağlanmalarında görev alan kimyasal bağlar genel olarak üç şekildedir (Şekil 2.).

- a) L-seril-D-Ksilozil bağı tüm proteoglikanlara özgüdür.
- b) Keratan sülfat I 'de GlcNAc ile asparagin arasında N-glikozid bağı bulunur.
- c) Keratan sülfat II'de, GalNAc ile serin ya da treonin arasında O-glikozid bağı bulunur.

Şekil 2. Proteoglikanların genel yapısı ve glikozaminoglikanların bağlanma bölgeleri.



1. GAG Sentezi

Glikozaminoglikanların sentezi endoplazmik retikulum (ER) ve golgi cisimciğinde gerçekleşir. Granüllü ER'de sentezlenen

proteine, mannoz içeren N-bağılı oligosakkarit ve ksiloz kalıntıları eklenir. GAG zincirlerinin uzaması, bu zincirlere sülfat eklenmesi, epimerizasyon, O-glikozid bağı ile oligosakkaridlerin bağlanması ile D-glukuronik asit ve L-idüronik asit eklenmesi golgi cisimciğinde olur. Sentezi tamamlanan glikozaminoglikanlar, golgi cisimciğinden hücre membranına geçerek burada salgılanırlar. Mast hücreleri, kondrositler, fibroblastlar ve endotel hücreleri GAG sentezlerler. Dokuda GAG dağılımı yaşla birlikte değişir (Murray, 1993; Demir, 2007; Smith & ark., 1988).

2. GAG Yıkım ve Atılımı

Glikozaminoglikanların yıkımı, lizozomda birbirini takip eden asit hidrolaz enzimlerle gerçekleşir. Bu amaçla;

- Ekzoglikozidaz (p-Glukuronidaz, p-D-Asetil Heksozaminidaz, p-Galaktozidaz, a-L-İduronidaz)
- Endoglikozidaz (Hyaluronidaz)
- Sülfataz (İduronat Sülfataz, N-asetil galaktozamin sülfataz) enzimleri görev alırlar.

GAG'lardan bir kısmı fibroblastların yüzeyine bağlanıp bu hücrelerin içine alınarak yıkılırlar. Proteoglikanlar kartilaj kollejeninden daha hızlı bir döngüye sahiptir. Bununla birlikte PG'lerin bulunduğu doku ve yapısal özelliklerine göre metabolik değişkenliği vardır. PG'lerin küçük bir kısmının döngüsü sekiz gün gibi kısa bir süre olmasına rağmen PG'leri oluşturan GAGs'ın yarılanma ömürleri yaklaşık 250 -600 gündür.

Günde yaklaşık 250 mg GAG sentezlenmekte ve aynı miktarlarda metabolize edilmektedir. Bunun ancak % 10 kadarı idrar yolu ile atılmaktadır. Kalanı dokularda lizozomal enzimler, glikozidaz ve sülfatazlar tarafından, son olarak da karaciğerde tamamen yıkılmaktadır. Yıkım, dokulardaki proteaz enzimleriyle başlar. Yıkımında en önemli basamak yapısındaki sülfatın ayrılmasıdır. Çünkü lizozomal glikozidaz enzimleri sülfat içeren oligosakkaritleri hidroliz edemezler. İdrarla atılan GAG ise herhangi bir proteine bağlanmazlar ve serbest olarak bulunurlar. Ayrıca

büyüklikleri lizozomal glikozidazlar ile kısmen yıkıldıklarını göstermektedir. İdrar GAG'ları elektroforez yöntemiyle incelendiğinde kan ve dokudaki dağılıma paralel olduğugözlenmiştir. Yaklaşık % 60-85'i kondroitin sülfat, %10'u hyaluronik asit, %15 -20'si heparan sülfat ve kalanı keratan sülfat ile diğer birimleri olduğu belirtilmiştir. Ancak böbrek dokusunda bu dağılımından farklı olarak en fazla heparan sülfat, hyaluronik asit, dermatan sülfat ve kondroitin sülfat içermektedir (Smith & ark., 1988; Parildar & ark., 2002; Hesse & ark., 1986).

Bir endoglikozidaz olan kondroitin sülfat ve hyaluronik asitin yıkılımında görev alan hyaluronidaz, tekrarlayan disakkarit birimleri arasındaki $\beta(1-4)$ glikozid bağlarını hidroliz ederek tetrasakkaride dönüştürür. Diğer lizozomal glikozidazlar tetrasakkaridi monosakkaridlere dönüştürür (Smith & ark., 1988).

3. GAG Sınıflandırması

Glikozaminoglikanlar; vücut içindeki dağılımı ile molekül yapılarındaki monosakkaridlerin tipi ve dizilişi, sülfat gruplarının miktarı ve dağılımı, glikozid bağlarının pozisyonu ve konfigürasyonu gibi yapısal farklılıklara göre 7 ayrı grupta incelenir (Stryer, 1988; Güner, 1999).

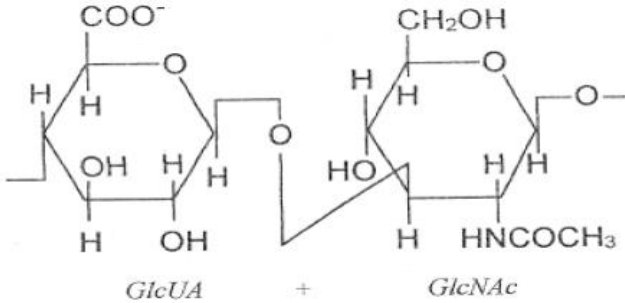
1. HiyaluronikAsit (HA)
2. Kondrotin-4-Sülfat (CS)
3. Dermatan Sülfat (DS)
4. Heparin (HP)
5. Heparan Sülfat (HS)
6. Keratan Sülfat -I (KS1)
7. Keratan Sülfat-II (KSII)

3.1. Hiyaluronik Asit (HA)

Fizyolojik pH'da hyaluronat halindedir; hayvansal dokuların ekstrasellüler matriksinin GAG'ıdır. Hiyaluronik asit, genel olarak sinoviyal sıvıda, korpus vitreumda, göbek kordonunda

bulunur, bağ doku ve başka dokuların jel benzeri ana maddesinin yapısına katılır. Büyük molekül ağırlığı ve yapısındaki karboksil yüklerinin verdiği anyonik özellikle oluşturduğu viskoz jel yapısı sayesinde, bulunduğu yapılarda kayganlaştırıcı ve emici görevi üstlenir. Kıkırdığın kompresyon yeteneğine katkıda bulunur (Smith & ark., 1988; Shcwartz, 1986; Güner, 1999).

Şekil 3. Hiyaluronik Asit.



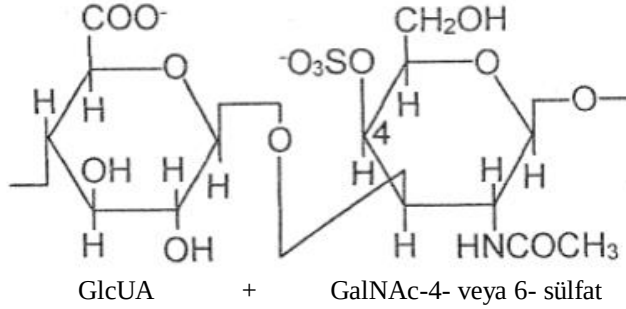
Diğer GAG'lardan farklı birçok özelliği vardır. Yapılarında sülfat grubu içermez ve buna bağlı olarak diğer GAG'ların aksine pozitif yük taşır (Şekil 3.). Yıkılımında hiyaluridaz enzimi görev alır. (Stryer, 1988; Güner, 1999).

3.2. Kondroitin Sülfatlar (CS)

Kıkırdığı oluşturan en önemli GAG'dır. Art arda gelen GlcUA ve N-asetil-galaktozamin sülfat (GalNAcSO₄⁻) ünitelerinden kurulmuşlardır (Şekil 4.): GalNAc' e sülfat grubunun kovalent bağlanma yerine göre kondroitin-4-sülfat (CS A) ve kondroitin-8-sülfat (CS B) adı verilir (Smith & ark., 1988; Murray, 1993).

Korneada gevşek bağ dokusunda, enkontral kemiğin kalsifikasyon bölgesinde tendon aorta ve nöron yapısında bulunur. Yetişkin insan kemiğinde temel GAG, kondroitin-4-sülfattır. Çözünür kollajenlerin tümü, CS bağlar. Ayrıca GS ve HS elastine bağlanmaktadır. Hyaluridaz enzimi, CS'yı hidrolize eder (Smith & ark., 1988; Güner, 1999).

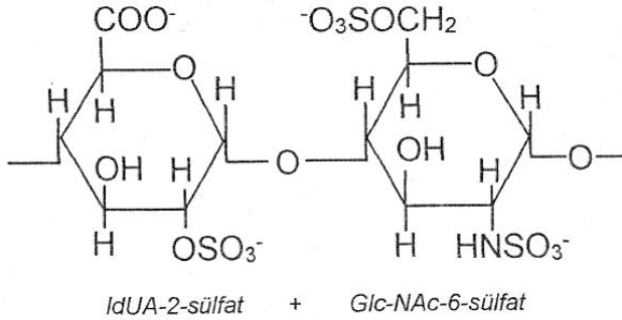
Şekil 4. Kondroitin-4-sülfat.



3.3. Dermatan Sülfat (DS)

Yapısal olarak heparan sülfat ve CS A' ya benzeyen GAG'dır (Şekil 5.). Kondroitin sülfat C adı da verilmektedir. Arterial düz kas hücreleri tarafından sentezlenir. Bağ dokusunun büyük moleküllü bileşeni olmakla birlikte; başlıca deride, kan damarları, kalp kapakçıkları ile akciğerde, daha az miktarlarda kemiklerde ve gözün sklera tabakasında bulunur. İlk olarak deriden izole edilmiştir.

Şekil 5. Dermatan sülfat.



Dermatan sülfatın fizyolojik görevi tam olarak belirlenememiştir. Buna rağmen, heparin etkisinden daha az olmakta birlikte anti-trombotik aktivite gösterdiği sanılmaktadır.

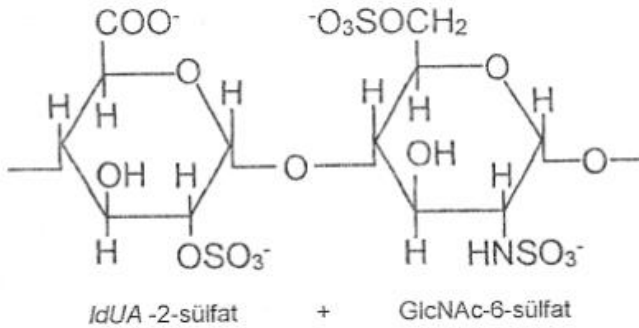
Ayrıca sentezlendikleri arteriel düz kasların aterosklerozda proliferasyonu ile plazmada LDL bağlayarak ateroskleroz plağının oluşmasında rol oynadığı da düşünülmektedir (Shchwartz, 1986)

3.4. Heparan Sülfat (HS)

Ekstraselüler yerleşen, reseptör davranışı gösteren GAG'dır. Kan damarları çeperlerinde, beyin dokusunda, fibroblastta ve glomerüler bazal membranda bulunur (Smith & ark., 1988; Shchwartz, 1986).

Heparine göre yapısında, daha çok N-asetil, daha az N-sülfat grubu ile çok düşük oranda O-sülfat grubu içerir (Şekil 6.). Heparin 10-15 oligosakkarid zinciri içerirken HS 4-5 tane içerir. Ancak heparin gibi antikoagülan aktivite göstermez 68-71. (Smith & ark., 1988; Shchwartz, 1986; Stryer, 1988; Güner, 1999).

Şekil 6. Heparan sülfat.



HS, özellikle GBM yapısını oluşturan önemli ve temel GAG bileşenidir. Büyük oranda su bağlama yeteneğine sahiptir. Bu anyonik özelliği sayesinde elektronegatiflik ve GBM'deki ultrafiltrasyon mekanizmasını etkiler. Normalde anyonik yüklü albumin molekülleri aynı yükteki HS gibi GAG kompleksleri tarafından itilerek membrandan uzaklaştırılır. Böylece proteinüri oluşumu engellenir (Khedun & ark., 2002).

3.5. Heparin (HP)

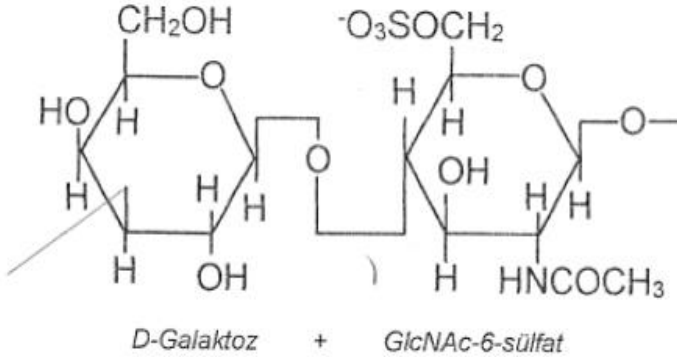
Antikoagülan özelliğiyle bilinen, günümüzde tedavi amaçlı en sık kullanılan glikozaminoglikan türevidir. Heparin, diğer GAG'dan farklı birçok özelliği vardır. Heparinin fiziksel görünümü beyaz renkli sodyum tuzu şeklindedir. Diğerlerinden farklı olarak

suda ve daha az oranlarda etil alkol ve kloroformda çözünebilir (Smith & ark., 1988; Murray, 1993; Shcwartz, 1986). Antikogulan fonksiyonunu, plazma α 2-glikoproteini olan antitrombin-III'ün lizin kalıntılarına bağlanıp trombini inaktive ederek yapar (Smith & ark., 1988; Murray, 1993).

3.6. Keratan Sülfat (KS I-II)

Karbonhidrat içeriği ve vücuttaki dağılımına göre iki tür keratan sülfat tanımlanmıştır. Keratan sülfat-I (KS I) korneada, keratan sülfat-II (KS II) kıkırdak, intervertebral disk, nükleus pulposus ve gevşek bağ dokusunda bulunur.

Şekil 7. Keratan sülfat.



KS I ve KS II moleküler bileşiminde mannoz, sialik asit, fukoz, GalNac monosakkaridler bulunur (Şekil 7.). Korneadaki KS I'de GlcNAc, proteine asparagin bağı ile bağlanır. Kıkırdakta bulunan KS II'de polisakkaridler, çekirdek proteine serin veya treonin'in hidroksil gruplarıyla ile GalNac arasında ise O-glikozid bağı ile bağlanır. HA, CS ile birlikte KS II PG agregatlarını oluşturur (Shcwartz, 1986; Güner, 1999).

4. Mukopolisakkaridozlar

Mukopolisakkaridozlar (MPS'ler), bağ dokusunun yapısal bileşenlerinden olan glikozaminoglikanların lizozomlarda yıkımını sağlayan enzimlerin eksikliği sonucu gelişen, kronik, ilerleyici ve çok sayıda sistemi etkileyen lizozomal depo hastalıklarıdır.

Glikozaminoglikanların hücre içi birikimi doku ve organlarda fonksiyon bozukluğuna neden olmaktadır (Khan & ark., 2017). Toplam 11 enzim eksikliği meydana gelip, yedi tipe ayrılır. Hangi enzimin eksik olduğuna bağlı olarak MPS bozukluklarının farklı tipleri vardır. MPS I (Hurler, Hurler–Scheie, Scheie Sendromu), MPS II (Hunter Sendromu), MPS III (Sanfilippo A, B, C, D Sendromu), MPS IV (Morquio A, B Sendromu), MPS VI (Maroteaux–Lamy Sendromu), MPS VII (Sly Sendromu), MPS IX (Natowicz Sendromu) gibi farklı tiplerde belirtiler, hastalığın şiddeti ve ilerleme hızına göre değişkenlik gösterir. Mukopolisakkaridozlar, farklı genlerdeki bozukluklardan kaynaklanmasına karşın MPS Tip II dışında hepsinin ortak bir özelliği vardır. Genlerde aktarım, otozomal çekinik kalıtım şeklinde gerçekleşir. Yani hastalığın çocukta ortaya çıkması için hem anneden hem de babadan gelen genlerde hastalığı oluşturacak kusurun bulunması gerekir. Etkilenmiş bireyler genellikle doğum sırasında ve yenidoğan döneminde normal görünüme sahiptir ve zamanla klinik bulgular ortaya çıkar. MPS’lerin fenotipi hafiften şiddetli forma kadar değişen geniş bir spektruma sahiptir. Genel olarak hastalığın şiddeti, hastanın genotipi ile ilişkili rezidüel enzim miktarına bağlıdır. Rezidüel enzim aktivitesi varlığına yol açan mutasyonlar, daha hafif klinik fenotipe neden olur (Scott& ark., 1995) .

Etkilenmiş kardeşler arasındaki fenotip, bilinmeyen diğer genetik ve çevresel faktörlere bağlı olarak farklılık gösterebilir. Çocukluk döneminde normal büyüme gerçekleşse de, ilerleyen yaşlarda büyüme yavaşlayabilir veya durabilir. MPS’lerin klinik bulguları arasında; kaba yüz görünümü, zihinsel gerilik, gelişme geriliği, işitme kaybı, tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları ve otitis media, obstrüktif ve restriktif akciğer hastalığı, kalp hastalığı, hepatosplenomegali, korneal bulanıklık, inguinal herni, umbilikal herni, eklem kontraktürleri, boy kısalığı ve kemik deformiteleri yer almaktadır. Özellikle kaba yüz görünümü, hepatosplenomegali ve kemik deformiteleri olan çocuklarda MPS’lerden şüphelenilmelidir.

Fizik muayene, periferik yayma, radyolojik bulgular ile şüphelenilen olgularda idrar GAG analizi, enzim aktivitesi ölçümü ve moleküler genetik analiz ile kesin tanı konulmaktadır. Hastalığın

tedavisinde multidisipliner yaklaşım önemlidir. Destekleyici ve semptomatik tedavi hastaların yaşam kalitesinin artmasını sağlar. MPS I, MPS II, MPS IVA, MPS VI ve MPS VII’de enzim replasman tedavisi veya enzim yerine koyma tedavisi kullanılmaktadır. MPS’lerde kullanılan diğer tedavi yöntemleri hematopoetik kök hücre transplantasyonu ve gen tedavisidir (Prasad & Kurtzbe, 2010; Fraldi & ark., 2018).

Kaynakça

Chanpe E, Harvey R. (1997) *Lippincott’s Illustrated series*. 2 ed. 147.

Güner G. In: Onat T, Emerk K, ed. (1999). *Temel Biyokimya*. 2 ed,: 862-870.

Demir E. & Yıldız L. (2007). Preeklamsi-Eklamsili Hastalarda N-Telopeptidler (Ntx) Ve Glikozaminoglikan (Gag) Düzeylerinin Değerlendirilmesi. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi).

Fraldi A, Serafini M, Sorrentino NC, et al. (2018). Gene therapy for mucopolysaccharidoses: in vivo and ex vivo approaches. *Ital J Pediatr* 2018; 44:130.

Hesse A, Wuzel H, Wahlsieck W. (2002). The excretion of glycosaminoglycans in the urine of calcium-oxalate-stone patients and healthy persons. *Urol Int* 1986; 41(2): 81-87. Khedun SM, Naicker TG, Moodley J, Gathiram P. Urinary heparan sulphate proteoglycan excretion in black african women with preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 81(4):308-312.

Khan SA, Peracha H, Ballhausen D, et al. (2017) Epidemiology of mucopolysaccharidoses. *Mol Genet Metab*. 121(3):227- 240.

Murray R, Granner Dk. (1993). *Harper’s Biochemistry*. 22 ed. 591-608.

Parildar Z, Uslu R, Tanyalçin T, Doğanavsargil E, Kutay F. (2002). The urinary excretion of glycosaminoglycans and heparan sulphate in lupus nephritis. *Clin Rheumatol*. 21(4): 284-288.

Scott HS, Bunge S, Gal A, et al. (1995). Molecular genetics of muco-polysaccharidosis type I: diagnostic, clinical, and biological implications. *Hum Mutat*. 6:288.

Shewartz N, B. Proteoglycans. In: Cevlin TM, ed. (1986). *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*. 2 ed. USA: John Wiley&Sons. 346-352.

Smith LE, Hill LR, Lehman RI, Lefkowitz JR. (1988). *Principles of Biochemistry, Mammalian Biochemistry*. 7 ed. 228-238.

Stryer L. (1988). *Biochemistry*. 3 ed. NewYork:W.H. Freeman and Company. 275-277

Prasad VK, Kurtzberg J. (2010). Transplant outcomes in mucopolysaccharidoses. *Semin Hematol*. 47:59.

BÖLÜM 4

BİTKİSEL BİYOAKTİFLERİN APELİN DÜZEYİNE ETKİSİ

MUSTAFA ORHAN TUNÇEL¹

Giriş

Metabolik hastalıkların, kardiyovasküler bozuklukların ve kronik inflamatuvar durumların dünya genelinde artış göstermesi, enerji homeostazı ve hücreler arası sinyal ağlarını düzenleyen endojen moleküllere olan bilimsel ilgiyi belirgin biçimde artırmıştır. Bu bağlamda, yağ dokusunun yalnızca enerji depolayan pasif bir yapı olmadığı; aksine çok sayıda biyolojik olarak aktif molekül salgılayan önemli ve dinamik bir endokrin organ olduğu artık belirgin biçimde kabul edilmektedir. Adipokinler olarak tanımlanan bu moleküller, glukoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinden inflamatuvar yanıtların kontrolüne, vasküler fonksiyonlardan hücrel enerji dengesine kadar geniş bir fizyolojik çerçevede rol oynamaktadır.

Bu adipokinler arasında yer alan apelin, son yıllarda metabolik ve kardiyovasküler biyolojinin merkezinde konumlanan çok yönlü bir peptid olarak dikkat çekmektedir. Apelin, G proteinine kenetli bir reseptör olan APJ (APLNR) reseptörünün endojen ligandı olup, ilk tanımlandığı dönemden itibaren yalnızca kardiyovasküler sistemle sınırlı olmayan, sistemik etkiler sergileyen bir biyolojik düzenleyici olarak ele alınmaktadır. Apelin geninin farklı proteolitik işlemler sonucunda Apelin-36, Apelin-17, Apelin-13 ve [Pyr¹]-Apelin-13 gibi biyolojik aktivitesi farklı izoformlara ayrılması, bu peptidin dokuya özgü ve bağlama duyarlı etkilerini açıklayan temel etkenlerden biridir.

Apelin-APJ sistemi; kalp, damar endoteli, iskelet kası, adipoz doku, karaciğer, pankreas ve santral sinir sistemi başta olmak üzere çok sayıda dokuda eksprese edilmekte olup, bu geniş dağılım apelin'in fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerdeki merkezi rolünü desteklemektedir. Kardiyovasküler sistemde pozitif inotropik etki, vazodilatasyon ve endotel fonksiyonlarının korunması; metabolik dokularda ise glukoz alımı, insülin duyarlılığı ve lipid metabolizmasının düzenlenmesi apelin'in en iyi tanımlanmış biyolojik etkileri arasında yer almaktadır.

Hücrel düzeyde apelin'in etkileri, başta PI3K/Akt, AMPK, MAPK/ERK ve eNOS/NO yolları olmak üzere çok sayıda sinyal mekanizması üzerinden gerçekleşmektedir. Özellikle AMPK'nın aktivasyonu, apelin'i yalnızca bir hormon değil aynı zamanda hücrel enerji dengesinin önemli bir sensörü hâline getirmektedir. Bu yollar aracılığıyla apelin; mitokondriyal biyogenez, yağ asidi oksidasyonu ve oksidatif stresin baskılanması gibi süreçlerde düzenleyici rol görevini üstlenmektedir. Bu özellikleri, apelin'i metabolik sendrom, obezite, tip 2 diyabet ve kardiyovasküler

¹ Öğr. Gör., İnönü Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Temel Eczacılık Bilimleri ABD, Malatya/Türkiye, Orcid: 0000-0002-8999-2223, mustafatuncel22@gmail.com --38--

hastalıklar gibi kompleks klinik tabloların merkezine yerleştirmektedir. Bununla birlikte, apelin düzeylerinin fizyolojik ve patolojik koşullarda tek yönlü ve sabit bir değişim göstermediği; aksine bağlama duyarlı, dinamik ve çoğu zaman kompensatuvar yanıtlar sergilediği belirtilmiştir. Obezite, insülin direnci ve kronik inflamasyon durumlarında apelin düzeylerinde artış veya azalış gözlenebilmekte; bu değişimlerin klinik anlamı, eşlik eden metabolik yük, inflamatuvar durum ve enerji dengesine göre farklılık gösterebilmektedir. Bu durum, apelin'in basit bir biyobelirteçten ziyade, organizmanın metabolik adaptasyon kapasitesini yansıtan etkin bir düzenleyici olduğunu düşündürmektedir.

Apelin-APJ sisteminin oksidatif stres ve inflamasyonla yakın ilişkisi, bu eksenin fitoterapötik ve yaşam tarzı temelli müdahaleler açısından da cazip bir hedef hâline getirmiştir. Reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi, mitokondriyal disfonksiyon ve kronik inflamasyon; apelin ekspresyonu ve sinyalizasyonunu doğrudan etkileyen faktörler arasında yer almaktadır. Bu nedenle oksidatif stres ve inflamasyonu baskılayabilen yaklaşımların, apelin düzeyleri üzerinde dolaylı fakat biyolojik olarak anlamlı etkiler oluşturabileceği öngörülmektedir.

Son yıllardaki çalışmalarda, bitkisel biyoaktif bileşikler bu bağlamda giderek daha fazla araştırılmaktadır. Polifenoller, flavonoidler, fenolik asitler, saponinler ve alkaloidler gibi fitokimyasalların; AMPK ve PI3K/Akt gibi apelin ile ortak sinyal yollarını modüle edebildiği, oksidatif stres yükünü azalttığı ve inflamatuvar yanıtları baskıladığına dair güçlü deneysel kanıtlar bulunmaktadır. Bu özellikler, bitkisel biyoaktiflerin apelin-APJ sistemi üzerinde doğrudan veya dolaylı düzenleyici etkiler gösterebileceği hipotezini desteklemektedir.

Ayrıca, egzersiz gibi fizyolojik uyarıların apelin düzeylerini değiştirebildiği; egzersizle indüklenen metabolik adaptasyonların, bitkisel desteklerle kombine edildiğinde daha dengeli ve sürdürülebilir biyolojik yanıtlar oluşturabildiği gösterilmiştir. Bu durum, apelin'i yalnızca farmakolojik değil, aynı zamanda fitoterapötik ve yaşam tarzı temelli müdahalelerin kesişim noktasında konumlandırmaktadır.

Bu çalışma, apelin biyolojisinin temel mekanizmalarını ortaya koyduktan sonra; resveratrol, *Lepidium sativum*, *Moringa oleifera*, beyaz ve yeşil çay, *Graviola* (*Annona muricata*), *Aralia taibaiensis* ve *Zataria multiflora*-egzersiz kombinasyonu gibi bitkisel ve fizyolojik müdahalelerin apelin-APJ sistemi üzerindeki potansiyel etkilerini güncel literatür ışığında ele almayı amaçlamaktadır. Böylece apelin hedefli fitoterapötik yaklaşımlar için biyolojik bir çerçeve sunulması hedeflenmektedir.

Apelin Biyolojisi ve Moleküler Etki Mekanizmaları

Apelin, ilk olarak endojen bir ligand olarak tanımlanan ve G proteinine kenetli APJ (APLNR) reseptörüne bağlanan biyolojik olarak aktif bir peptittir. Apelin geni, farklı proteolitik işlemler sonucunda Apelin-36, Apelin-17, Apelin-13 ve biyolojik aktivitesi en yüksek formlardan biri olan [Pyr¹]-Apelin-13 gibi çeşitli izoformlar oluşturmaktadır. Bu izoformlar dokuya özgü olarak farklı ekspresyon profilleri sergilemekte ve fizyolojik yanıtların farklı yöntemlerle çeşitlendirilmesine katkı sağlamaktadır (Folino, Montarolo, Samaja, & Rastaldo, 2015; Kleinz & Davenport, 2005; Kurowska et al., 2018).

Apelin-APJ Sisteminin Genel Özellikleri

APJ reseptörü, klasik anjiyotensin II tip 1 reseptörüne (AT1R) yapısal benzerlik göstermesine rağmen, anjiyotensin II'ye bağlanmaz ve bağımsız bir sinyal ağı üzerinden işlev görür. Apelin-APJ

sistemi; kalp, damar endoteli, iskelet kası, adipoz doku, karaciğer, pankreas ve santral sinir sistemi başta olmak üzere çok sayıda dokuda salgılanmakta olup, bu geniş dağılım apelin'in çok yönlü biyolojik etkilerini göstermektedir (Kinjo, Higashi, Uno, & Kuramoto, 2021; Kleinz & Davenport, 2005).

Apelin Sinyalizasyonu ve Hücre İçi Yolaklar

Apelin'in APJ reseptörüne bağlanmasıyla birlikte başta $G_{i/o}$ proteinleri olmak üzere çok sayıda hücre içi sinyal yolakları aktive edilir. Bu süreçte belirgin olarak PI3K/Akt, AMPK, MAPK/ERK ve eNOS/NO eksenleri ön plana çıkmaktadır (Kinjo et al., 2021; Respekta et al., 2022).

PI3K/Akt yolunun aktivasyonu, apelin'in hücre sağkalımı, glukoz alımı ve metabolik homeostaz üzerindeki etkilerinde kritik rol oynamaktadır. Özellikle iskelet kası ve adipoz dokuda Akt fosforilasyonunun artması, GLUT4 translokasyonunu kolaylaştırarak insülin bağımsız glukoz alımını güçlendirmektedir (Alipour, Ashoori, Pilehvar-Soltanahmadi, & Zarghami, 2017; Respekta et al., 2022).

AMPK aktivasyonu ise apelin'in enerji sensörü rolünü güçlendiren temel mekanizmalardan biridir. AMPK aracılığıyla mitokondriyal biyogenez, yağ asidi oksidasyonu ve hücrel enerji dengesi desteklenirken, eş zamanlı olarak oksidatif stres baskılanmaktadır (Kurowska et al., 2018; Respekta et al., 2022).

Kardiyovasküler Sistem ve Endotelyal Fonksiyonlarda Apelin

Apelin-APJ sistemi kardiyovasküler fizyolojide güçlü bir düzenleyici olarak tanımlanmaktadır. Apelin, pozitif inotropik etkisi sayesinde miyokardiyal kontraktileti artırırken, aynı zamanda sistemik vasküler dirençte azalmaya yol açarak kan basıncının düzenlenmesine katkı sağlar (Antushevich & Wójcik, 2018; Folino et al., 2015; Kleinz & Davenport, 2005).

Endotel hücrelerinde apelin sinyalizasyonu, eNOS aktivasyonu ve nitrik oksit (NO) üretiminin artışı ile ilişkilidir. NO aracılı vazodilatasyon, endotelyal disfonksiyonun baskılanması ve damar esnekliğinin korunması, apelin'in anti-aterosklerotik potansiyelini ortaya koymaktadır (Antushevich & Wójcik, 2018; Folino et al., 2015).

Apelin, Oksidatif Stres ve İnflamasyon İlişkisi

Apelin'in biyolojik etkileri yalnızca metabolik ve hemodinamik düzenleme ile sınırlı değildir; aynı zamanda güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler sergilemektedir. Apelin sinyalizasyonu, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimini baskılayarak mitokondriyal fonksiyonların korunmasına katkı sağlar (Kurowska et al., 2018; Pisarenko & Studneva, 2023; Respekta et al., 2022).

İnflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-6 gibi) artışı ile apelin ekspresyonu arasında çift yönlü bir ilişki olduğu bildirilmektedir. Kronik inflamasyon durumlarında apelin düzeylerinde düzensizlikler gözlenirken, apelin'in inflamatuvar yanıtı baskılayıcı etkisi NF- κ B sinyal yolunun inhibisyonu ile ilişkilendirilmektedir (Gandham, Sumathi, & CD, 2019; Kinjo et al., 2021; Pisarenko & Studneva, 2023).

Apelin ve Metabolik Hastalıklarla İlişkisi

Obezite, insülin direnci, tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıklarda apelin düzeylerinin değişkenlik gösterdiği bildirilmektedir. Adipoz dokudan salgılanan bir adipokin olarak apelin, yağ

dokusu–kas–karaciğer ekseninde metabolik iletişimi şekillendirmektedir (Alipour et al., 2017; Antushevich & Wójcik, 2018).

Patolojik koşullarda apelin düzeylerindeki artış veya azalış, çoğu zaman kompanse edilebilir bir yanıt olarak değerlendirilmektedir. Bu durum, apelin'in tek başına bir biyobelirteçten ziyade, metabolik dengenin dinamik bir göstergesi olduğunu düşündürmektedir (Gandham et al., 2019; Kinjo et al., 2021).

Bitkisel Biyoaktifler İçin Biyolojik Zemin

Apelin–APJ sisteminin AMPK, PI3K/Akt ve oksidatif stres yollarıyla yakın ilişkisi, bitkisel biyoaktiflerin bu sistem üzerindeki potansiyel düzenleyici etkilerine güçlü bir biyolojik temel oluşturmaktadır. Polifenoller, flavonoidler ve fenolik asitler gibi bitkisel bileşiklerin bu yollar üzerindeki etkileri göz önüne alındığında, apelin düzeylerinin fitoterapötik müdahalelerle modüle edilebileceği düşüncesi giderek güçlenmektedir (A Ghanbari-Niaki et al., 2020; Kleinz & Davenport, 2005; Pisarenko & Studneva, 2023).

Bitkisel Biyoaktiflerin Apelin Üzerindeki Düzenleyici Etkileri

Resveratrol

Resveratrol, polifenolik yapısı ve güçlü antioksidan kapasitesi sayesinde metabolik, kardiyovasküler ve nöroinflamatuvar süreçlerde düzenleyici etkiler gösteren önemli bir bitkisel biyoaktiftir. Enerji metabolizması, adipokin dengesi ve inflamasyonla ilişkili sinyal yolları üzerindeki etkileri dikkate alındığında, resveratrolün apelin–APJ sistemiyle etkileşime girebilecek biyolojik bir modülatör olduğu gösterilmektedir (Pisarenko & Studneva, 2023; Szkudelska et al., 2019; Zarei et al., 2016).

Deneyisel bulgular, resveratrol uygulamasının AMPK ve PI3K/Akt yollarını aktive ederek hücrel enerji homeostazını desteklediğini ve oksidatif stres yükünü azalttığını göstermektedir (Szkudelska et al., 2019; Yamagata, Tagawa, Matsufuji, & Chino, 2012). Bu yolların apelin ekspresyonunun düzenlenmesinde kritik rol oynaması, resveratrolün apelin düzeylerini doğrudan hücre içi sinyalizasyon üzerinden etkileyebileceğini düşündürmektedir (Eseberri, Lasa, Churrua, & Portillo, 2013; Sabry et al., 2022).

Metabolik bozukluk modellerinde yapılan çalışmalarda, resveratrolün inflamatuvar sitokin üretimini baskıladığı, adipokin profilini iyileştirdiği ve insülin duyarlılığını artırdığı bildirilmiştir (Eseberri et al., 2013; Gürsu, Altaş, Dönder, Gürsu, & Karaman, 2023). Bu etkilerin, adipoz doku fonksiyonları ve metabolik inflamasyonun azalması yoluyla apelin düzeylerinde ikincil düzenleyici değişikliklere yol açabileceği değerlendirilmektedir (Sabry et al., 2022; Zarei et al., 2016).

Son yıllarda yayımlanan güncel çalışmalar, resveratrolün yalnızca periferik dokularda değil, sinir sistemi ve nöroinflamasyon ile ilişkili süreçlerde de belirgin biyolojik etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur (Fan et al., 2018). Apelin–APJ sisteminin santral sinir sistemi ekspresyonu göz önüne alındığında, resveratrolün nöroinflamatuvar yanıtı baskılayıcı etkilerinin apelin sinyalizasyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Duan et al., 2019).

Ayrıca resveratrolün mitokondriyal fonksiyonları koruyucu, reaktif oksijen türlerini azaltıcı ve hücrel stres yanıtlarını düzenleyici etkileri, apelin'in kardiyometabolik ve hücre koruyucu rolü ile önemli ölçüde örtüşmektedir (Alipour et al., 2017; Yamagata et al., 2012). Bitkisel kaynaklı

biyoaktiflerin apelin aracılı etkilerinin bu çok katmanlı mekanizmalar üzerinden şekillenmesi, resveratrolü apelin hedefli fitoterapötik yaklaşımlar açısından önemli bir aday haline getirmektedir.

Tüm bunlarla birlikte, mevcut veriler ağırlıklı olarak deneysel modellere dayanmaktadır ve resveratrol–apelin etkileşiminin klinik doz, süre ve dokuya özgü yanıtları açısından ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır (Alipour et al., 2017; Gürsu et al., 2023; Szkudelska et al., 2019).

***Lepidium sativum* (Tere Tohumu)**

Lepidium sativum (bahçe teresi/tere tohumu), zengin fitokimyasal içeriği ve antioksidan kapasitesi nedeniyle metabolik stres, dislipidemi ve oksidatif hasar gibi süreçlerde destekleyici bir bitkisel ajan olarak ele alınmaktadır (Al-Snafi, 2019). Bu çerçevede, obezite ve insülin direncinde belirginleşen adipokin düzensizliğinin bir bileşeni olan apelin düzeylerinin, *L. sativum*'un antioksidan/antimetabolik etkileriyle ikincil olarak modüle edilebileceği düşünülmektedir.

Lepidium sativum



Kaynak: (Başagaoglu & Kavalalı, 2019)

Deneysel obezite modelinde yapılan bir çalışmada, yüksek yağlı diyetin adipokin profili ve oksidatif parametrelerde bozulma oluşturduğu; *L. sativum*'un antioksidan özellikleri ile bu biyokimyasal baskının azaltılmasının, apelin düzeylerindeki değişimlerle birlikte değerlendirilebileceği raporlanmıştır (El-Shawwa, 2019). Bu bulgu, *L. sativum*'un apelin yanıtını tek başına “doğrudan artırıcı/azaltıcı” bir ajan gibi değil; daha çok insülin duyarlılığı, oksidatif stres, adipoz doku yanıtı eksenini üzerinden şekillenen bir düzenleyici çerçevede etkileyebileceğini düşündürmektedir (El-Shawwa, 2019).

Diyabet/metabolik bozukluk modellerinde *L. sativum*'un glisemik kontrol ve doku hasarıyla ilişkili parametreleri iyileştirebildiğini bildiren deneysel veriler, apelin gibi metabolizma ile ilişkili adipokinlerin de bu genel iyileşme zemini içinde yeniden dengelenebileceği görüşünü desteklemektedir (Doghmane, Aouacheri, Laouaichia, & Saka, 2021; El-Emary, 2021). Nitekim streptozotosin ile indüklenen diyabet modelinde cress seed (*L. sativum*) suplementasyonu hiperglisemiye eşlik eden biyokimyasal bozulma ve oksidatif stres yükünü azaltmış; histolojik düzeyde iyileşme ile değerlendirilmiştir (Doghmane et al., 2021). Bu tür sonuçlar, apelin değişimlerinin tek bir mekanizmaya indirgenemeyeceğini; bitkisel müdahalenin çoklu hedefli etkileri üzerinden okunması gerektiğini göstermektedir (Doghmane et al., 2021; El-Shawwa, 2019).

Öte yandan *L. sativum*'un lipid profili ve böbrek parametreleri üzerine etkilerini inceleyen güncel bir deneysel çalışma, bitkinin/metabolitlerinin metabolik yükü azaltabildiğine işaret etmektedir (Ahmed et al., 2025). Apelin–APJ sisteminin kardiyometabolik homeostazla ilişkisi göz önüne alındığında, bu tarz sonuçlar apelin düzeyinde gözlenebilecek değişimleri dolaylı biçimde destekleyebilecek bir biyolojik arka plan sunar (Ahmed et al., 2025). Daha erken dönem farmakolojik değerlendirmeler de *L. sativum* tohum ekstraktlarının anti-inflamatuvar/analjezik etkileri ve güvenlik profiline dair temel kanıtlar sunarak, metabolik ve inflamatuvar ekseninde yapılacak çalışmalar için çerçeve oluşturmaktadır (Al-Yahya, Mossa, Ageel, & Rafatullah, 1994).

***Moringa oleifera* (Morinya Ağacı)**

Moringa oleifera (morinya ağacı), içerdiği çeşitli fenolik bileşikler, flavonoidler ve antioksidan fitokimyasallar sayesinde metabolik ve oksidatif stres düzenleyici özellikleri ile farmakolojik ilgi odağı haline gelmiştir (Fadhillah et al., 2025; Qi et al., 2019). Bu biyoaktif içerikler, lipid ve glukoz metabolizması, inflamasyon ve adipoz doku homeostazı gibi apelin–APJ sistemi ile ilişkilendirilebilecek pek çok biyolojik süreç üzerinde etkili olabilmektedir.

Moringa oleifera. (A) *Moringa* ağacı. (B) *Moringa* yaprakları. (C) *Moringa* çiçekleri. (D) *Moringa* meyvesi.



Kaynak:(Abdull Razis, Ibrahim, & Kntayya, 2014)

Bilimsel çalışmalar, *M. oleifera* özlerinin antioksidan kapasitesini güçlendirdiğini ve oksidatif stres belirteçlerini azalttığını göstermektedir; örneğin özütler, glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi endojen antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak hücrel stres yanıtlarını düzenleyebilmektedir (Qi et al., 2019). Bu etki, apelin'in hücrel enerji dengesi ve oksidatif stres yanıtı ile ilişkili sinyal yollarıyla örtüşmektedir.

Ayrıca *M. oleifera*'nın farklı dokular ve sistemler üzerinde antiinflamatuvar ve metabolik düzenleyici etkileri olduğu bildirilmiştir (Pareek et al., 2023). Bitkinin çeşitli parçalarından elde edilen özlerin, serbest radikal oluşumunu inhibe ettiği ve inflamatuvar sitokinlerin üretimini azalttığı gösterilmiştir (Bayraktar et al., 2023; He et al., 2022). Bu kapsamda, *M. oleifera*'nın biyoaktif bileşenlerinin apelin–APJ sistemiyle etkileşime girerek metabolik inflamasyonu ve adipoz doku disfonksiyonunu iyileştirebileceği hipotezi ortaya çıkmaktadır.

Fonksiyonel beslenme ve fitoterapi alanında *M. oleifera*'nın fenolik ve flavonoid profili, kardiyometabolik düzenleme, antioksidan savunma ve enerji metabolizmasının modülasyonu gibi temel mekanizmalar üzerinden apelin seviyelerini dolaylı olarak etkileyebilecek bir biyolojik zemin

sağlar (Fadhillah et al., 2025; Yueyan et al., 2025). Ancak mevcut çalışmalar çoğunlukla antioksidan/antiinflamatuvar etki modelleri üzerine odaklanmış olup, *Moringa oleifera*'nın doğrudan apelin düzeylerini ölçen klinik veya moleküler çalışmalarının eksikliği dikkat çekmektedir. Bu nedenle apelin–APJ sistemi üzerindeki etkilerin netleştirilmesi için ileri moleküler ve deneysel çalışmalar gereklidir.

Beyaz ve Yeşil Çay

Camellia sinensis bitkisinden elde edilen beyaz ve yeşil çaylar, işleme düzeylerindeki farklılıklara bağlı olarak değişen oranlarda kateşinler, polifenoller ve antioksidan bileşikler içermektedir. Özellikle yeşil çay, epigallokateşin gallat (EGCG) başta olmak üzere biyolojik olarak aktif kateşinler açısından zengin olup, metabolik ve inflamatuvar süreçler üzerindeki etkileri yoğun biçimde araştırılmıştır (Soori, Safei, Pournemati, & Ghram, 2018). Beyaz çay ise daha minimal işlenmiş yapısı sayesinde bazı durumlarda daha yüksek toplam antioksidan kapasite sergileyebilmektedir (Hamdy et al., 2022).

Deneysel ve klinik çalışmalarda, yeşil çay veya yeşil çay ekstraktı uygulamasının metabolik parametreler, inflamatuvar belirteçler ve enerji metabolizmasıyla ilişkili hormonlar üzerinde düzenleyici etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Bagheri et al., 2020). Özellikle egzersizle kombine edilen yeşil çay uygulamalarında, adipokin dengesinde ve inflamatuvar yanıtın baskılanmasında anlamlı iyileşmeler bildirilmiştir (Bagheri et al., 2020; Sümer, Demirtaş, Pınarbaş, Kutlu, & Kılıç, 2024). Bu bulgular, apelin gibi enerji metabolizması ve inflamasyonla ilişkili adipokinlerin dolaylı olarak etkilenebileceğini düşündürmektedir.

Beyaz çay üzerine yapılan çalışmalar daha sınırlı olmakla birlikte, mevcut veriler beyaz çayın antioksidan savunmayı güçlendirdiğini, oksidatif stres kaynaklı doku hasarını azalttığını ve metabolik dengeyi desteklediğini göstermektedir (Hamdy et al., 2022). Oksidatif stresin apelin ekspresyonu ve APJ sinyalizasyonu üzerindeki düzenleyici rolü göz önüne alındığında, beyaz çayın bu sistem üzerinde dolaylı etkiler oluşturabileceği değerlendirilmektedir (Sümer et al., 2024).

Son yıllarda yayımlanan deneysel çalışmalar, çay polifenollerinin merkezi sinir sistemi, enerji homeostazı ve inflamasyon eksenini üzerindeki etkilerine dikkat çekmektedir (Karimi, Daryabor, & Masjedi, 2024; Soori et al., 2018). Apelin–APJ sisteminin hem periferik dokularda hem de santral sinir sisteminde eksprese edilmesi, çay polifenollerinin nöroinflamasyon ve metabolik sinyalleşme üzerindeki etkilerinin apelin aracılı mekanizmalarla kesişebileceğini düşündürmektedir (Karimi et al., 2024). Bununla birlikte, beyaz veya yeşil çay tüketiminin apelin düzeylerini doğrudan ölçen çalışmaların sayısı sınırlıdır. Mevcut literatür, daha çok inflamasyon, oksidatif stres ve metabolik belirteçler üzerinden dolaylı çıkarımlara dayanmaktadır (Bagheri et al., 2020; Cardoso, Salgado, Cesar, & Donado-Pestana, 2013). Bu nedenle, çay polifenollerinin apelin–APJ sistemi üzerindeki etkilerinin netleştirilmesi için, apelin ölçümlerini içeren kontrollü deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Graviola (*Annona Muricata*)

Graviola (*Annona muricata*), özellikle yaprak ve meyve kısımlarında bulunan zengin fitokimyasal içeriği sayesinde antioksidan, antiinflamatuvar ve metabolik düzenleyici özellikler sergileyen önemli bir tropikal bitkidir. Bitkinin başlıca biyolojik aktif bileşenleri arasında annonaceous asetogeninler, flavonoidler, alkaloidler ve fenolik bileşikler yer almakta olup, bu

bileşiklerin hücrel redoks dengesi ve enerji metabolizması üzerinde belirgin etkiler gösterdiği bildirilmektedir (Erkılıç & Bayraktar, 2025; Rady et al., 2018).

Deneyssel ve derleme temelli çalışmalar, *Annona muricata*'nın oksidatif stres belirteçlerini azalttığını, lipid peroksidasyonunu baskıladığını ve antioksidan savunma sistemlerini güçlendirdiğini ortaya koymaktadır (Erkılıç & Bayraktar, 2025). Oksidatif stresin apelin ekspresyonu ve APJ reseptör sinyalizasyonu ile yakın ilişkisi göz önüne alındığında, graviola kaynaklı bu antioksidan etkilerin apelin aracılı metabolik ve kardiyovasküler yanıtları dolaylı olarak modüle edebileceği düşünülmektedir.

Ayrıca graviolanın inflamatuvar yanıtı baskılayıcı etkileri, özellikle NF- κ B ilişkili yolların inhibisyonu ve proinflamatuvar sitokin üretiminin azalması ile ilişkilendirilmiştir (Rady et al., 2018). Apelin-APJ sisteminin inflamasyon ve metabolik stres koşullarında düzenleyici bir rol üstlendiği bilindiğinden, *Annona muricata*'nın antiinflamatuvar etkileri apelin düzeyleri üzerinde ikincil ve dolaylı bir düzenleme potansiyeli taşımaktadır (Erkılıç & Bayraktar, 2025).

Bununla birlikte mevcut literatürde *Annona muricata*'nın apelin düzeylerini doğrudan ölçen deneyssel veya klinik çalışmalara rastlanmamaktadır. Dolayısıyla graviola-apelin ilişkisi, bitkinin oksidatif stres, inflamasyon ve enerji metabolizması üzerindeki iyi tanımlanmış etkileri üzerinden mekanistik bir çerçevede değerlendirilmektedir. Bu durum, apelin hedefli fitoterapötik yaklaşımlar açısından *Annona muricata*'nın potansiyelini ortaya koymakla birlikte, bu ilişkinin netleştirilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

Aralia Taibaiensis

Aralia taibaiensis, Araliaceae familyasına ait, çok yıllık ve otsu bir bitki türü olup, Çin'in Shaanxi eyaletinde yer alan Qinba Dağları başta olmak üzere sınırlı bir coğrafyada doğal olarak yetişmektedir. Bu bitki, Çin geleneksel tıbbında uzun süredir kullanılmakta ve özellikle metabolik hastalıklar, inflamatuvar durumlar ve kardiyovasküler bozukluklar ile ilişkili rahatsızlıklarda halk hekimliğinde yer almaktadır (Li et al., 2025).

Bitkinin en önemli farmakolojik bileşenlerini, kök ve kök kabuğundan izole edilen triterpenoid saponinler oluşturmaktadır. Bu saponinler, modern farmakolojik çalışmalarda antioksidan, antiinflamatuvar ve metabolik düzenleyici özellikleriyle öne çıkmıştır (Li et al., 2025). Özellikle *Aralia taibaiensis* kaynaklı saponinlerin, hücrel oksidatif stresi baskıladığı, mitokondriyal fonksiyonları koruduğu ve enerji metabolizmasıyla ilişkili sinyal yollarını modüle edebildiği bildirilmektedir (Weng et al., 2014).

Fitokimyasal analizler, *Aralia taibaiensis*'in saponin içeriğinin yapısal olarak zengin ve biyolojik olarak aktif olduğunu ortaya koymuş; bu bileşiklerin farmakolojik etkilerinin, bitkinin geleneksel kullanım alanlarıyla yüksek derecede uyumlu olduğu gösterilmiştir (Weng et al., 2014). Bu özellikleriyle *Aralia taibaiensis*, hem etnofarmakolojik hem de moleküler düzeyde incelenmeye değer bir tıbbi bitki olarak değerlendirilmektedir.

Egzersiz + *Zataria Multiflora* Kombinasyonu ve Apelin

Apelin-APJ sistemi; glukoz homeostazı, insülin duyarlılığı ve kardiyometabolik adaptasyonlarla ilişkili bir adipokin ekseni olduğundan, egzersizle birlikte fitoterapötik desteklerin bu eksen üzerindeki etkisi özellikle metabolik sendrom riskinin arttığı gruplarda önem kazanır. Bu çerçevede, postmenopozal kadınlarda yapılan çalışmada 8 haftalık “devre” direnç antrenmanının

plazma apelin düzeyini artırdığı; bununla birlikte *Zataria multiflora*'nın tek başına apelin üzerinde bağımsız bir etkisinin olmadığı, ancak kan glukozunu düşürerek antrenman etkileriyle kısmi sinerji gösterebileceği bildirilmiştir (A Ghanbari-Niaki et al., 2020). Aynı çalışmada insülin ve glukozda düşüş ile insülin direnci/duyarlılığı parametrelerinde iyileşme yönündeki bulgular, apelin değişimlerinin “yalnızca bitkisel destekten” ziyade egzersiz kaynaklı metabolik yeniden düzenlenmenin bir çıktısı olabileceğini düşündürür (A Ghanbari-Niaki et al., 2020).

Zataria multiflora'nın egzersizle birlikte “endokrin” yanıtları modüle edebildiğine dair ek insan verisi, apelin dışındaki egzersizle ilişkili bir başka sinyal molekülü üzerinden de desteklenmektedir: postmenopozal kadınlarda yürütülen randomize bir çalışmada, egzersiz + *Zataria multiflora* kombinasyonunun serum irisin düzeylerini artırdığı bildirilmiş; bu bulgu, *Zataria*'nın fenolik içeriği/antioksidan kapasitesi ile egzersizin kas kaynaklı sinyal yanıtlarını aynı biyolojik zeminde etkileyebileceği fikrini güçlendirmiştir (Abbass Ghanbari-Niaki et al., 2018). Bu iki çalışma birlikte incelendiğinde, *Zataria*'nın apelin üzerine “doğrudan” bir belirleyiciden çok, glisemik yük/oksidatif stres/inflamasyon gibi aracı bileşenleri iyileştirerek egzersiz adaptasyonlarına eşlik eden bir destek olabileceği yorumu daha tutarlı görünür (Abbass Ghanbari-Niaki et al., 2018; A Ghanbari-Niaki et al., 2020).

Kardiyometabolik açıdan apelin odağına daha doğrudan yaklaşan deneysel kanıt ise iskemi-reperfüzyon hasarı modelinde sunulmuştur: sıçanlarda yapılan çalışmada apelin ve egzersizin birlikte uygulanmasının, kardiyak hücresel hasarı azaltmada sinerjik bir etki gösterebileceği vurgulanmıştır (Nazari & Chehelcheraghi, 2020). Öte yandan apelin yanıtının yönü; popülasyon (obez/sağlıklı, kadın/erkek), eşlik eden takviye ve protokole göre değişebilmektedir. Nitekim fazla kilolu/obez erkeklerde 8 haftalık direnç antrenmanı ± *Spirulina* müdahalesinde, gruplar arası fark apelin için belirgin olmasa da antrenman içeren gruplarda apelin düzeylerinde azalma eğilimi ile glukozda düşüş bildirilmiştir (Mohammad et al., 2022). Bu bulgular, çalışmamız açısından önemli bir mesaj verir: apelin yanıtı bağlama duyarlıdır; “artış” her zaman hedef olmayabilir ve klinik/deneysel amaç (glisemik kontrol, inflamasyon, kardiyak korunma) apelin yorumunu belirler (A Ghanbari-Niaki et al., 2020; Mohammad et al., 2022; Nazari & Chehelcheraghi, 2020).

Tartışma

Bu çalışma da sunulan veriler, apelin–APJ sisteminin metabolik homeostaz, kardiyovasküler fonksiyonlar ve inflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde merkezi bir role sahip olduğunu açık biçimde ortaya koymaktadır. Apelin'in PI3K/Akt, AMPK ve MAPK/ERK gibi temel hücre içi sinyal yolları üzerinden enerji metabolizması, oksidatif stres ve hücresel sağkalım mekanizmalarını düzenlemesi, bu peptidin yalnızca bir adipokin değil; çok yönlü bir biyolojik düzenleyici olarak değerlendirilmesini gerekli kılmaktadır (Kleinz & Davenport, 2005; Kurowska et al., 2018; Kinjo et al., 2021).

Mevcut literatür, apelin düzeylerinin obezite, insülin direnci ve tip 2 diyabet gibi metabolik bozukluklarda değişkenlik gösterdiğini; bu değişimin çoğu zaman patofizyolojik süreç karşı gelişen kompansatuvar bir yanıt niteliği taşıdığını düşündürmektedir (Alipour et al., 2017; Gandham et al., 2019). Bu durum, apelin'in tek başına “artışı” ya da “azalışı” üzerinden değil, bağlam-duyarlı bir biyobelirteç olarak yorumlanması gerektiğini göstermektedir. Nitekim egzersiz, beslenme durumu, inflamasyon düzeyi ve oksidatif stres yükü gibi faktörler, apelin yanıtının yönünü belirleyen kritik değişkenlerdir (Antushevich & Wójcik, 2018; Kinjo et al., 2021).

Bu bağlamda bitkisel biyoaktiflerin apelin–APJ sistemi üzerindeki potansiyel düzenleyici etkileri, özellikle AMPK ve PI3K/Akt eksenleri üzerinden anlam kazanmaktadır. Resveratrol başta olmak üzere polifenolik bileşiklerin bu yolları aktive ederek hücrel enerji homeostazını desteklemesi, oksidatif stresi baskılaması ve inflamatuvar sitokin üretimini azaltması; apelin sinyalizasyonu ile güçlü bir mekanistik örtüşme sergilemektedir (Eseberri et al., 2013; Szkudelska et al., 2019; Pisarenko & Studneva, 2023). Bu nedenle resveratrol, apelin hedefli fitoterapötik yaklaşımlar açısından yalnızca “destekleyici” değil, biyolojik olarak rasyonel bir modülatör olarak değerlendirilebilir.

Lepidium sativum, *Moringa oleifera* ve *Annona muricata* gibi bitkilerde ise apelin düzeylerini doğrudan ölçen çalışmaların sınırlı olması, bu bitkilerin apelin ile ilişkisini dolaylı mekanizmalar üzerinden tartışmayı gerekli kılmaktadır. Antioksidan savunmanın güçlendirilmesi, inflamasyonun baskılanması ve glisemik kontrolün iyileştirilmesi gibi etkiler; apelin ekspresyonunu etkileyebilecek biyolojik bir zemin oluşturmaktadır (El-Shawwa, 2019; Doghmane et al., 2021; Rady et al., 2018). Bu durum, bitkisel müdahalelerin apelin yanıtını tekil bir hedef üzerinden değil, çoklu sistem regülasyonu yoluyla şekillendirdiğini düşündürmektedir.

Aralia taibaiensis örneği ise bu alanda dikkat çekici bir istisna sunmaktadır. Bitkiden izole edilen triterpenoid saponinlerin apelin ve APJ reseptör ekspresyonunu artırdığı ve bu etkinin AMPK yoluyla gerçekleştiğinin gösterilmesi, bitkisel bir kaynağın apelin sistemini doğrudan hedefleyebileceğini ortaya koymuştur (Xu et al., 2025; Weng et al., 2014). Bu bulgu, apelin odaklı fitoterapötik stratejiler için deneysel düzeyde güçlü bir kanıt sunmakta ve literatürde önemli bir boşluğu doldurmaktadır.

Egzersizle ilişkili veriler, apelin yanıtının bağlama duyarlılığını en net şekilde ortaya koymaktadır. Direnç ve dayanıklılık egzersizlerinin apelin düzeylerini artırabildiği; ancak bu artışın her zaman metabolik iyileşme ile paralel seyretmediği bildirilmiştir (A Ghanbari-Niaki et al., 2020; Mohammad et al., 2022). *Zataria multiflora* ile kombine edilen egzersiz protokollerinde ise bitkinin apelin üzerinde doğrudan bir etkisinden ziyade, glisemik yük ve oksidatif stresin azaltılması yoluyla egzersiz adaptasyonlarını desteklediği görülmektedir (Abbass Ghanbari-Niaki et al., 2018; A Ghanbari-Niaki et al., 2020). Bu sonuçlar, apelin yanıtının “artış/fayda” şeklinde basitleştirilemeyeceğini; klinik hedefe göre yorumlanması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak değerlendirilen bu veriler, apelin–APJ sisteminin bitkisel biyoaktifler ve egzersiz müdahaleleri ile çok katmanlı ve bağlama bağımlı bir etkileşim içinde olduğunu göstermektedir. Gelecekte yapılacak çalışmaların, apelin düzeylerini yalnızca ikincil bir sonuç değişkeni olarak değil; mekanistik hedef olarak ele alması, bitkisel müdahalelerin doz–süre–doku özgüllüğünü içeren kontrollü tasarımlarla değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu yaklaşım, apelin merkezli fitoterapötik stratejilerin translasyonel potansiyelini güçlendirecektir.

Sonuç

Bu çalışma kapsamında değerlendirilen literatür, apelin–APJ sisteminin metabolik, kardiyovasküler ve inflamatuvar düzenlemede merkezi bir konuma sahip olduğunu ve bu sistemin bitkisel biyoaktifler ile egzersiz gibi yaşam tarzı müdahaleleri tarafından modüle edilebileceğini göstermektedir. Bitkisel kaynaklı polifenoller, flavonoidler ve saponinler; doğrudan apelin ölçümleri sınırlı olsa da apelin sinyalizasyonu ile örtüşen AMPK, PI3K/Akt ve oksidatif stres yolları üzerinden biyolojik etkiler sergilemektedir.

Elde edilen bulgular, apelin düzeylerindeki değişimlerin “artış” ya da “azalış” olarak tek yönlü değerlendirilmemesi gerektiğini; aksine bu değişimlerin metabolik yük, inflamasyon durumu ve enerji dengesi bağlamında yorumlanmasının daha anlamlı olduğunu ortaya koymaktadır. Bu yönüyle apelin, fitoterapötik ve egzersiz temelli müdahalelerde hem bir hedef hem de bir adaptasyon göstergesi olarak ele alınmalıdır.

Sonuçta apelin hedefli fitoterapötik yaklaşımlar, metabolik hastalıkların önlenmesi ve yönetiminde umut vadeden bir alan sunmaktadır. Ancak bu potansiyelin klinik pratiğe aktarılabilmesi için, apelin düzeylerini doğrudan ölçen, iyi tasarlanmış, doz-süre ilişkisini netleştiren ve farklı popülasyonları kapsayan ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Kaynakça

Abdull Razis, A. F., Ibrahim, M. D., & Kntayya, S. B. (2014). Health benefits of *Moringa oleifera*. *Asian pacific journal of cancer prevention*, 15(20), 8571-8576.

Ahmed, E. T., Dukessa, A., Mateos, T., Meka, W., Seyoum Moti, M., & Zawdie, B. (2025). Evaluation of the antidyslipidemic and nephroprotective effect of methanolic seed extract of *Lepidium sativum* on male Swiss albino mice fed on deep fried palm oil. *Frontiers in Nutrition*, 12, 1468704.

Al-Snafi, A. (2019). Chemical constituents and pharmacological effects of *Lepidium sativum*. *Int J Curr Pharm Res*, 11(6), 1-10.

Al-Yahya, M., Mossa, J., Ageel, A., & Rafatullah, S. (1994). Pharmacological and safety evaluation studies on *Lepidium sativum* L., Seeds. *Phytomedicine*, 1(2), 155-159.

Alipour, F. G., Ashoori, M. R., Pilehvar-Soltanahmadi, Y., & Zarghami, N. (2017). An overview on biological functions and emerging therapeutic roles of apelin in diabetes mellitus. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 11, S919-S923.

Antushevich, H., & Wójcik, M. (2018). Apelin in disease. *Clinica chimica acta*, 483, 241-248.

Bagheri, R., Rashidlamir, A., Ashtary-Larky, D., Wong, A., Grubbs, B., Motevalli, M. S., . . . Zouhal, H. (2020). Effects of green tea extract supplementation and endurance training on irisin, pro-inflammatory cytokines, and adiponectin concentrations in overweight middle-aged men. *European journal of applied physiology*, 120(4), 915-923.

Başıgaoglu, İ., & Kavalalı, G. (2019). Tere bitkisinin (*Lepidium sativum* L.) halk hekimliğinde kullanılması. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*, 9(3), 282-284.

Bayraktar, B., Tekce, E., Bayraktar, S., Büyük, G., Takma, Ç., Aksakal, V., . . . Gürbüz, A. B. (2023). Investigation of endocrine response of thyroid and intestinal and adipose tissues due to the addition of *Moringa oleifera* essential oil in diet for quails exposed to heat stress. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 52, e20210040.

Cardoso, G. A., Salgado, J. M., Cesar, M. d. C., & Donado-Pestana, C. M. (2013). The effects of green tea consumption and resistance training on body composition and resting metabolic rate in overweight or obese women. *Journal of medicinal food*, 16(2), 120-127.

Doghmane, A., Aouacheri, O., Laouaichia, R., & Saka, S. (2021). The investigation of the efficacy ratio of cress seeds supplementation to moderate hyperglycemia and hepatotoxicity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 20(1), 447-459.

Duan, J., Cui, J., Yang, Z., Guo, C., Cao, J., Xi, M., . . . Wei, G. (2019). Neuroprotective effect of Apelin 13 on ischemic stroke by activating AMPK/GSK-3 β /Nrf2 signaling. *Journal of neuroinflammation*, 16(1), 24.

El-Emary, G. (2021). Role of *Lepidium sativum* in Treating Diabetes and Managing Bodily Functions' Disorders in Rats. *Karbala International Journal of Modern Science*, 7(2), 4.

El-Shawwa, M. M. (2019). Correlation between serum and liver levels of some adipokines and oxidative parameters in obese adult male rats with and without antioxidant. *Al-Azhar Assiut Medical Journal*, 17(3), 233-241.

Erkılıç, T. O., & Bayraktar, B. (2025). Effect of Graviola Oil Extract on Anti-obesity Effect and Adipokine (Apelin and Adiponectin) Response in High Fat Diet-induced Obese Rats. *Indian Journal of Animal Research*, 59(2).

Eseberri, I., Lasa, A., Churrua, I., & Portillo, M. P. (2013). Resveratrol metabolites modify adipokine expression and secretion in 3T3-L1 pre-adipocytes and mature adipocytes. *PLoS one*, 8(5), e63918.

Fadhillah, M. R., Arozal, W., Habiburrahman, M., Arumugam, S., Wibowo, H., Primadhani, S. W., . . . Khatimah, N. G. (2025). Phytocompounds from Indonesia Medicinal Herbs as Potential Apelin Receptor Agonist for Heart Failure Therapy: An In-silico Approach. *International Journal of Technology*, 16(1), 332-347.

Fan, J., Guang, H., Zhang, H., Chen, D., Ding, L., Fan, X., . . . Mao, S. (2018). SIRT1 mediates apelin-13 in ameliorating chronic normobaric hypoxia-induced anxiety-like behavior by suppressing NF- κ B pathway in mice hippocampus. *Neuroscience*, 381, 22-34.

Folino, A., Montarolo, P. G., Samaja, M., & Rastaldo, R. (2015). Effects of apelin on the cardiovascular system. *Heart failure reviews*, 20(4), 505-518.

Gandham, R., Sumathi, E., & CD, D. (2019). Apelin and its receptor: an overview.

Ghanbari-Niaki, A., Saeidi, A., Ahmadian, M., Gharahcholo, L., Naghavi, N., Fazelzadeh, M., . . . Williams, A. (2018). The combination of exercise training and Zataria multiflora supplementation increase serum irisin levels in postmenopausal women. *Integrative medicine research*, 7(1), 44-52.

Ghanbari-Niaki, A., Saeidi, A., Gharahcholo, L., Moradi-Dehbaghi, K., Zare-Kookandeh, N., Ahmadian, M., . . . Hackney, A. C. (2020). Influence of resistance training and herbal supplementation on plasma apelin and metabolic syndrome risk factors in postmenopausal women. *Science & sports*, 35(2), 109. e101-109. e105.

Gürsu, O., Altaş, S., Dönder, E., Gürsu, M. F., & Karaman, M. E. (2023). The Effects of Resveratrol and Pioglitazone Treatment on Serum Resistin and Apelin Levels and Histochemical Parameters in the Metabolic Syndrome Rat Model: Animal Experiment. *Türkiye Klinikleri. Tıp Bilimleri Dergisi*, 43(1), 127-134.

Hamdy, S. M., El-Khayat, Z., Farrag, A. R., Sayed, O. N., El-Sayed, M. M., & Massoud, D. (2022). Hepatoprotective effect of Raspberry ketone and white tea against acrylamide-induced toxicity in rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 45(2), 722-730.

He, B.-s., Wang, X., Zhang, Y., Gao, C., Wu, C.-k., Guo, S.-r., . . . Wang, J.-h. (2022). Anti-oxidant, anti-inflammatory, and anti-fibrotic effects of Moringa oleifera seeds on renal injury diabetic induced by streptozotocin. *Journal of Functional Foods*, 95, 105168.

Karimi, Z., Daryabor, G., & Masjedi, F. (2024). Effects of conditioned media derived from human Wharton's jelly mesenchymal stem cells on diabetic nephropathy and hepatopathy via modulating TGF- β and apelin signaling pathways in male rats. *BMC Endocrine Disorders*, 24(1), 6.

Kinjo, T., Higashi, H., Uno, K., & Kuramoto, N. (2021). Apelin/apelin receptor system: molecular characteristics, physiological roles, and prospects as a target for disease prevention and pharmacotherapy. *Current molecular pharmacology*, 14(2), 210-219.

Kleinz, M. J., & Davenport, A. P. (2005). Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacology & therapeutics*, 107(2), 198-211.

Kurowska, P., Barbe, A., Różycka, M., Chmielińska, J., Dupont, J., & Rak, A. (2018). Apelin in reproductive physiology and pathology of different species: a critical review. *International journal of endocrinology*, 2018(1), 9170480.

Li, Z., Liu, Y., Liu, K., Tao, X., Hu, N., Li, W., & Duan, J. (2025). Saponins from *Aralia taibaiensis* protect against brain ischemia/reperfusion injuries by regulating the apelin/AMPK pathway. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 23(3), 299-310.

Mohammad, M., Karim, D., Mehdi, M., Marziyeh, S., Hadi, S., & Shila, N. (2022). The combinatory effect of spirulina supplementation and resistance exercise on plasma contents of adipolin, apelin, ghrelin, and glucose in overweight and obese men. *Mediators of Inflammation*, 2022(1), 9539286.

Nazari, A., & Chehelcheraghi, F. (2020). Using Apelin and exercise to protect the cardiac cells: synergic effect in ischemia reperfusion injuries treatment in rats. *Bratislavske Lekarske Listy*, 121(1), 14-21.

Pareek, A., Pant, M., Gupta, M. M., Kashania, P., Ratan, Y., Jain, V., . . . Chuturgoon, A. A. (2023). *Moringa oleifera*: An updated comprehensive review of its pharmacological activities, ethnomedicinal, phytopharmaceutical formulation, clinical, phytochemical, and toxicological aspects. *International journal of molecular sciences*, 24(3), 2098.

Pisarenko, O. I., & Studneva, I. M. (2023). Apelin C-terminal fragments: biological properties and therapeutic potential. *Biochemistry (Moscow)*, 88(11), 1874-1889.

Qi, L., Zhou, Y., Li, W., Zheng, M., Zhong, R., Jin, X., & Lin, Y. (2019). Effect of *Moringa oleifera* stem extract on hydrogen peroxide-induced opacity of cultured mouse lens. *BMC complementary and alternative medicine*, 19(1), 144.

Rady, I., Bloch, M. B., Chamcheu, R.-C. N., Banang Mbeumi, S., Anwar, M. R., Mohamed, H., . . . El Sayed, K. A. (2018). Anticancer properties of graviola (*Annona muricata*): A comprehensive mechanistic review. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018(1), 1826170.

Respekta, N., Pich, K., Dawid, M., Mlyczyńska, E., Kurowska, P., & Rak, A. (2022). The apelinergic system: apelin, ELABELA, and APJ action on cell apoptosis: anti-apoptotic or pro-apoptotic effect? *Cells*, 12(1), 150.

Sabry, M. M., Ahmed, M. M., Maksoud, O. M. A., Rashed, L., Morcos, M. A., El-Maaty, A. A., . . . Sharawy, N. (2022). Carnitine, apelin and resveratrol regulate mitochondrial quality control (QC) related proteins and ameliorate acute kidney injury: role of hydrogen peroxide. *Archives of physiology and biochemistry*, 128(5), 1391-1400.

Soori, R., Safei, A., Pournemati, P., & Ghram, A. (2018). Green tea consumption reduces apelin and orexin-A in overweight and obese women with different training modalities. *Sport Sciences for Health*, 14(2), 421-431.

Sümer, A., Demirtaş, Ö., Pınarbaş, E., Kutlu, E. Y., & Kılıç, H. (2024). White Tea Mitigates Obesity-Related Metabolic Disorders Through Apelin and Insulin Modulation in Rats. *bioRxiv*, 2024.2010.2005.616820.

Szkudelska, K., Deniziak, M., Hertig, I., Wojciechowicz, T., Tyczewska, M., Jaroszewska, M., & Szkudelski, T. (2019). Effects of resveratrol in Goto-Kakizaki rat, a model of type 2 diabetes. *Nutrients*, 11(10), 2488.

Weng, Y., Yu, L., Cui, J., Zhu, Y.-R., Guo, C., Wei, G., . . . Wang, Y.-H. (2014). Antihyperglycemic, hypolipidemic and antioxidant activities of total saponins extracted from *Aralia taibaiensis* in experimental type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 152(3), 553-560.

Yamagata, K., Tagawa, C., Matsufuji, H., & Chino, M. (2012). Dietary apigenin regulates high glucose and hypoxic reoxygenation-induced reductions in apelin expression in human endothelial cells. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 23(8), 929-936.

Yueyan, Z., Ziyang, Z., Su, Z., Xiaoxue, Y., Baiyi, L., & Yihong, J. (2025). Studies on *Moringa oleifera* Leaves Components against Hyperlipidemia through Network Pharmacology and Cell Model. *Journal of Chinese Institute of Food Science & Technology/Zhongguo Shipin Xuebao*, 25(2).

Zarei, S., Saidijam, M., Karimi, J., Yadegarazari, R., Farimani, A. R., HOSSEINI-ZIJOOD, S., & Goodarzi, M. T. (2016). Effect of resveratrol on resistin and apelin gene expressions in adipose tissue of diabetic rats. *Turkish journal of medical sciences*, 46(5), 1561-1567.

BÖLÜM 5

MYRTUS COMMUNIS L. (MERSİN BİTKİSİ)'NİN KİMYASAL ÖZELLİKLERİ, AKTİF BİLEŞENLERİ VE TERAPÖTİK POTANSİYELİ

SEFA ÇELİK¹

1. Giriş

Myrtus communis L. (Mersin bitkisi), Akdeniz havzasına özgü, yüzyıllardır hem mutfak hem de geleneksel tıpta kullanılan, Myrtaceae familyasına ait aromatik bir çalıdır. Bitki, sadece kültürel önemiyle değil, aynı zamanda yapısındaki zengin ve çeşitli biyoaktif bileşenler nedeniyle bilimsel araştırmaların odak noktası haline gelmiştir. Bu bileşenler, bitkiye güçlü antioksidan, antienflamatuvar, antimikrobiyal ve antikanser gibi çok sayıda farmakolojik aktivite kazandırmaktadır (Alipour, Dashti, & Hosseinzadeh, 2014). Bu derleme, Mersin bitkisinin kimyasal

¹ Prof. Dr., Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İbki Biyokimya AD, Orcid: 0000-0002-5187-378x.

profilini, başlıca etken maddelerini ve bu maddelerin çeşitli hastalıkların tedavisindeki potansiyel rolünü ve mekanizmalarını, özellikle antioksidan kapasitesi merkezinde sistematik bir şekilde ele almayı amaçlamaktadır.

2. Kimyasal Bileşenler ve Etken Maddeler

M. communis, yaprak, meyve, çiçek ve tohum gibi farklı kısımlarında çeşitli sınıflardan biyoaktif bileşikler içermektedir. Bu bileşenlerin tür ve miktarı, bitkinin yetiştiği coğrafya, iklim, hasat zamanı ve ekstraksiyon yöntemine göre değişiklik gösterebilmektedir (Özkan & Güray, 2009).

2.1. Uçucu Yağ Bileşenleri

Bitkinin karakteristik kokusunu ve birçok biyolojik aktivitesinin temelini oluşturur. Ana bileşenler arasında monoterpen hidrokarbonlar ve oksijenli türevleri bulunur:

1,8-Sineol (Ökalipol): Genellikle en baskın bileşendir. Güçlü antimikrobiyal, balgam söktürücü ve antiinflamatuvar özelliklere sahiptir (Mohamed, Mohafez, Khalil, & Alhaider, 2019).

α -Pinen ve β -Pinen: Diğer önemli monoterpen hidrokarbonlardır.

Linalool, α -Terpineol, Linalil Asetat: Hoş kokulu monoterpen alkol ve esterlerdir. Sakinleştirici ve antimikrobiyal etkileri ile bilinirler (Caputo vd., 2022).

Mirtenil Asetat ve Mirtenol: Mersin bitkisine özgü sayılabilecek bileşiklerdir.

2.2. Fenolik Bileşikler ve Flavonoidler

Bu grup, bitkinin güçlü antioksidan kapasitesinden büyük ölçüde sorumludur. Hem yapraklarda hem de meyvelerde yüksek miktarda bulunurlar.

Tanenler (Gallotaninler ve Ellajitaninler): Özellikle yapraklarda yoğundur. Büzücü, antimikrobiyal ve antioksidan özellik gösterirler (Amensour vd., 2009).

Flavonoidler: Quercetin, mirisetin, kateşin türevleri ve flavon glikozitleri içerir.

Fenolik Asitler: Gallik asit, kafeik asit, ellajik asit ve bunların türevleri yaygındır.

2.3. Benzersiz Acylfloroglukinoller: Mirtukommulon ve Türevleri

Bu bileşik sınıfı, *M. communis*'i benzersiz kılan ve son yıllarda özellikle antikanser araştırmalarının odağı haline gelen moleküllerdir.

Mirtukommulon-A: Yapraklardan izole edilen, prenillenmemiş bir asilfloroglukinoldür. 5-Lipoksijenaz ve siklooksijenaz-1'i doğrudan inhibe ederek güçlü **antiinflamatuvar aktivite** gösterir (Feisst, Franke, Appendino, & Werz, 2005). Ayrıca, mitokondriyal yol aracılığıyla kanser hücrelerinde **apoptozu (programlı hücre ölümü) indükler** ve sağlıklı hücrelere kıyasla seçici bir toksisite sergiler (Tretiakova vd., 2008).

Semi-Mirtukommulon ve Diğer Oligomerik Türevler: Benzer yapıda olup çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptirler (Appendino vd., 2002).

3. Hastalıkların Tedavisindeki Geleneksel ve Potansiyel Kullanımları

Geleneksel tıp bilgisi ve modern bilimsel çalışmalar, Mersin'in aşağıdaki alanlarda terapötik potansiyelini ortaya koymaktadır:

3.1. Solunum ve Enfeksiyon Hastalıkları

Uçucu yağının antimikrobiyal ve balgam söktürücü özellikleri nedeniyle, bronşit, sinüzit ve soğuk algınlığı semptomlarının hafifletilmesinde geleneksel olarak kullanılmıştır. 1,8-sineolün antibakteriyel ve antiviral etkileri bu kullanımı destekler niteliktedir (Hoch vd., 2023). Yeni çalışmalar, etanolik ekstraktının tüberküloz dahil çeşitli mikobakterilere karşı etkili olduğunu göstermiştir (Mir vd., 2024).

3.2. Sindirim Sistemi Rahatsızlıkları

Yapraklarının büzücü (tanen içeriği nedeniyle) özelliği, ishal tedavisinde yaygın kullanımının temelini oluşturur. Ayrıca, mide ülseri, hazımsızlık ve iştahsızlık için de geleneksel reçetelerde yer almaktadır (Sumbul, Ahmad, Asif, & Akhtar, 2011).

3.3. Dermatolojik Durumlar ve Yara İyileşmesi

Antiseptik ve antiinflamatuvar özellikleri, akne, egzama, yanık ve enfekte yaraların tedavisinde harici uygulamalarını popüler kılmıştır. Hem uçucu yağı hem de sulu/etanolik ekstraktının yara iyileşmesini hızlandırdığı deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (Aleksic & Knezevic, 2014).

3.4. Metabolik ve İnflamatuvar Hastalıklar

Diyabet: Bazı *in vivo* çalışmalar, Mersin yaprak ekstresinin kan şekeri düzeylerini düşürdüğünü ve insülin direncini iyileştirdiğini bildirmiştir. Bu etki, antioksidan aktivitesi ve α -glukozidaz enzim inhibisyonu ile ilişkilendirilmiştir (Alipour vd., 2014).

İnflamasyon: Mirtukommulon'un spesifik enzim inhibisyonu (Feisst vd., 2005) ve diğer fenolik bileşiklerin sitokin üretimini modüle etmesi, artrit gibi kronik inflamatuvar durumlar için potansiyel bir tedavi seçeneği olabileceğini düşündürmektedir.

3.5. Kanser

Önceki bölümlerde ayrıntılı değinildiği gibi, özellikle **mirtukommulon**, kanser araştırmalarında umut verici bir moleküldür. Meme, prostat, kolon ve lösemi hücre hatları üzerinde, sağlıklı hücrelere zarar vermeden apoptozu tetikleyebilme yeteneği ("seçici sitotoksiste"), onu gelecek vaat eden bir kemoterapötik ajan adayı yapmaktadır (Tretiakova vd., 2008; Mir vd., 2024).

4. Antioksidan Etki ve Mekanizmaları

M. communis'in belki de en iyi belgelenmiş ve en geniş kabul görmüş farmakolojik özelliği güçlü antioksidan kapasitesidir. Bu

etki, içerdği çoklu fenolik ve flavonoid bileşiklerin sinerjistik hareketinden kaynaklanır.

4.1. Antioksidan Mekanizmalar

Serbest Radikal Süpürücü Aktivite: Bitki ekstraktları ve uçucu yağı, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikallerini ve süperoksit anyon radikallerini etkili bir şekilde süpürür (Rosa vd., 2003). Fenolik bileşikler, elektron veya hidrojen atomu vererek bu kararsız radikalleri stabilize eder.

Metal Şelatlama: Demir (Fe^{2+}) ve bakır (Cu^{2+}) gibi geçiş metallerini bağlayarak, bunların katalize ettiği Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikali ($\bullet OH$) gibi daha zararlı reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu engeller.

İndirgeyici Güç: Yüksek fenolik içeriği sayesinde güçlü bir indirgeyici ajan olarak davranır, redoks reaksiyonlarını dengeler.

Lipit Peroksidasyonunun İnhibisyonu: İnsan düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu inhibe ederek, ateroskleroz gibi oksidatif stres kaynaklı hastalıkların önlenmesine katkıda bulunabilir (Rosa, Melis, Deiana, Atzeri, Appendino, Corona, & Dessi, 2008).

4.2. Antioksidan Etkinin Terapötik Sonuçları

Yüksek antioksidan kapasite, bitkinin birçok terapötik özelliğinin altında yatan temel mekanizmadır:

Hücre Koruyucu Etki: Oksidatif DNA hasarını, protein oksidasyonunu ve lipid peroksidasyonunu azaltarak hücreleri korur.

Anti-inflamatuar Etki ile İlişki: Oksidatif stres ve inflamasyon birbirini besleyen süreçlerdir. ROS'u azaltmak, NF- κ B gibi pro-inflamatuar sinyal yollarını inhibe ederek iltihabı hafifletebilir.

Antikanser Potansiyel ile Bağlantı: Kronik oksidatif stres kanser gelişimini teşvik eder. Antioksidanlar, kanserojen başlatma ve ilerleme süreçlerine karşı koruyucu bir rol oynayabilir. Ayrıca, mirtokommulon gibi bileşikler, kanser hücrelerinde ROS seviyelerini artırarak (pro-oksidan etki) da apoptozu tetikleyebilir; bu, "antioksidan paradoksu" olarak bilinen duruma bir örnektir.

5. Sonuç ve Gelecek Perspektifi

Myrtus communis L., hem geleneksel kullanım geçmişi hem de modern bilim tarafından doğrulanan geniş farmakolojik aktivite spektrumu ile değerli bir bitkisel kaynaktır. Zengin kimyasal içeriği, özellikle fenolik bileşikler, uçucu yağlar ve benzersiz

mirtukommulon türevleri, onun güçlü antioksidan, antienflamatuar, antimikrobiyal ve antikanser özelliklerinin temelini oluşturur.

Gelecekteki araştırmalar için öneriler:

Klinik Çalışmalar: Umut verici *in vitro* ve *in vivo* sonuçların, insanlar üzerinde güvenilir klinik deneylerle doğrulanması gerekmektedir.

Standartizasyon ve Formülasyon: Terapötik etkinin tekrarlanabilirliği için, aktif bileşen içeriği standart hale getirilmiş ekstraktların ve uygun ilaç formülasyonlarının geliştirilmesi kritik öneme sahiptir.

Hedef ve Mekanizma Araştırmaları: Mirtukommulon gibi spesifik bileşiklerin moleküler hedeflerinin ve farmakokinetik özelliklerinin (emiyon, dağılım, metabolizma, atılım) daha derinlemesine incelenmesi.

Sinerjistik Etkilerin İncelenmesi: Bitki içindeki çoklu bileşenlerin bir arada nasıl çalıştığının ("fitokompleks" etkisi) ve geleneksel tedavilerle olası sinerjilerinin araştırılması.

Sonuç olarak, *M. communis* sadece geleneksel bir şifalı bitki olmanın ötesinde, modern tıp için yeni ilaç adayları ve fonksiyonel gıda bileşenleri sunan, bilimsel araştırmalara konu olmaya devam edecek önemli bir doğal kaynaktır.

M. communis'in güçlü antioksidan kapasitesi, yapısında bulunan ve sinerjistik olarak çalışan çeşitli fitokimyasal sınıflarından kaynaklanmaktadır. Aşağıdaki tabloda (Tablo 1), bitkinin ana antioksidan bileşenlerini, yapısal özelliklerini, bulundukları kısımları ve temel antioksidan mekanizmaları özetlenmektedir.

Tablo 1: Myrtus communis'in Başlıca Antioksidan Bileşenleri

Bileşen	Etken madde	Antioksidan etki	Kaynak
Fenolik Asitler	Gallik asit, Ellajik asit, Kafeik asit, Siringik asit	Doğrudan Radikal Süpürücü: DPPH, ABTS, süperoksit anyon radikallerini nötralize eder. Metal Şelatlama: Fe ²⁺ ve Cu ²⁺ iyonlarını bağlayarak •OH oluşumunu engeller.	Amensour vd., 2009; Alipour vd., 2014
Flavonoidler	Mirisetin, Kersetirin, Kateşin türevleri, Quercetin glikozitleri	Radikal Süpürücü: Lipid peroksidasyon zincir reaksiyonunu kırar. İndirgeyici Ajan: Ferrik iyonu (Fe ³⁺) ferroz iyona (Fe ²⁺) indirger. Pro-oksidan İnhibisyonu: Oksidaz enzimlerini (örn., ksantin oksidaz) inhibe eder.	Rosa vd., 2003; Sumbul vd., 2011
Tanenler	Gallotaninler (Örn., Penta-galloyl-glukoz), Ellajitaninler	Geniş Radikal Nötralizasyonu: Lipid peroksidasyonuna ve DNA oksidatif hasarına karşı koruma. Enzimi nhibisyonu: Lipoksijenaz gibi oksidatif stresle ilişkili enzimleri inhibe eder.	Amensour vd., 2009
Uçucu Yağ Bileşenleri	1,8-Sineol (Ökalipol), α-Terpineol, Linalool	Lipofilik Radikal Süpürücü: Hücre membranındaki lipit peroksidasyonunu inhibe eder. İndirgeyici Potansiyel: Orta düzeyde indirgeyici aktivite gösterir.	Caputo vd., 2022; Mohamed vd., 2019

Oligomerik Asilfloroglukinoller	Mirtukommulon-A, Semi-Mirtukommulon	• Güçlü Radikal Süpürücü: DPPH radikallerine karşı çok yüksek aktivite. • LDL Oksidasyon İnhibisyonu: İnsan kötü kolesterolünün (LDL) oksidatif modifikasyonunu güçlü şekilde engeller, ateroskleroza karşı koruyucu potansiyel gösterir.	Appendino vd., 2002; Rosa, Melis, vd., 2008
Antosiyaninler	Petunidin 3-O-glukozit, Malvidin 3-O-rutinozit	• Radikal Süpürücü: Meyve ekstraktının toplam antioksidan kapasitesine önemli katkıda bulunur.	(Özkan & Güray, 2009)

Bu tablo, *M. communis*'in antioksidan savunmasının çok bileşenli ve çok mekanizmalı olduğunu açıkça göstermektedir. Her bileşen sınıfı farklı bir antioksidan strateji sunar: fenolik asitler ve flavonoidler suda çözünür, güçlü elektron bağışçıları iken; uçucu yağ bileşenleri lipofilik ortamlarda etkilidir. Özellikle yapraklar, tanenler ve benzersiz mirtukommulon türevleri açısından; meyveler ise fenolik asitler, antosiyaninler ve flavonoidler bakımından zengindir.

Kaynakça

Aleksic, V., & Knezevic, P. (2014). Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological Research*, 169(3), 240-254.

Alipour, G., Dashti, S., & Hosseinzadeh, H. (2014). Review of pharmacological effects of *Myrtus communis* L. and its active constituents. *Phytotherapy Research*, 28(8), 1125-1136.

Amensour, M., Sendra, E., Abrini, J., Bouhdid, S., Pérez-Alvarez, J. A., & Fernández-López, J. (2009). Total phenolic content and antioxidant activity of myrtle (*Myrtus communis*) extracts. *Natural Product Communications*, 4(6), 819-822.

Appendino, G., Bianchi, F., Minassi, A., Sterner, O., Ballero, M., & Gibbons, S. (2002). Oligomeric acylphloroglucinols from myrtle (*Myrtus communis*). *Journal of Natural Products*, 65(3), 334-338.

Caputo, L., Capozzolo, F., Amato, G., De Feo, V., Fratianni, F., Vivencio, G., & Nazzaro, F. (2022). Chemical composition, antibiofilm, cytotoxic and anti-acetylcholinesterase activities of *Myrtus communis* L. leaves essential oil. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 22(1), 142.

Feisst, C., Franke, L., Appendino, G., & Werz, O. (2005). Identification of molecular targets of the oligomeric nonprenylated acylphloroglucinols from

myrtle (*Myrtus communis*) and their implication as anti-inflammatory compounds. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 315(1), 389-396.

Hoch, C. C., Petry, J., Griesbaum, L., Weiser, T., Werner, K., Ploch, M., ... & Wollenberg, B. (2023). 1,8-cineole (eucalyptol): A versatile phytochemical with therapeutic applications across multiple diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 167, 115467.

Mir, M. A., Memish, L. A., Elbehairi, S. E., Bashir, N., Masoud, F. S., Shati, A. A. & Ahmad, I. (2024). Antimycobacterial and anticancer properties of *Myrtus communis* leaf extract. *Pharmaceuticals*, 17(7), 872.

Mohamed, M. E., Mohafez, O. M., Khalil, H. E., & Alhaider, I. A. (2019). Essential oil from myrtle leaves growing in the eastern part of Saudi Arabia: Components, anti-inflammatory and cytotoxic activities. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 22(4), 877-892.

Özkan, A. M., & Güray, Ç. G. (2009). *A Mediterranean: Myrtus communis* L. (Myrtle). Edipuglia Srl.

Rosa, A., Deiana, M., Casu, V., Corona, G., Appendino, G., Bianchi, F. & Dessi, M. A. (2003). Antioxidant activity of oligomeric acylphloroglucinols from *Myrtus communis* L. *Free Radical Research*, 37(9), 1013-1019.

Rosa, A., Melis, M. P., Deiana, M., Atzeri, A., Appendino, G., Corona, G., & Dessi, M. A. (2008). Protective effect of the oligomeric acylphloroglucinols from *Myrtus communis* on cholesterol and human low-density lipoprotein oxidation. *Chemistry and Physics of Lipids*, 155(1), 16-23.

Sumbul, S., Ahmad, M. A., Asif, M., & Akhtar, M. (2011). *Myrtus communis* Linn. - A review. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 2(4), 395-402.

Tretiakova, I., Blaesius, D., Maxia, L., Wesselborg, S., Schulze-Osthoff, K., Cinatl, J. & Werz, O. (2008). Myrtucommulone from *Myrtus communis* induces apoptosis in cancer cells via the mitochondrial pathway involving caspase-9. *Apoptosis*, 13(1), 119-131.

BÖLÜM 6

MERSİN BİTKİSİNİN (*MYRTUS COMMUNIS* L.) ANTİKANSER ETKİNLİĞİ

SEFA ÇELİK¹

1.Giriş

Myrtus communis L. (Mersin bitkisi), Akdeniz bölgesine özgü, hem kültürel hem de geleneksel tıbbi öneme sahip herdem yeşil bir çalıdır. Bitki yüzyıllardır çeşitli inflamatuvar, gastrointestinal ve solunum yolu hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Özkan & Güray, 2009). Modern farmakolojik araştırmalar, *M. communis*'in antimikrobiyal, antioksidan, antidiyabetik ve antiinflamatuvar özelliklerini ortaya koymuştur (Alipour vd., 2014; Aleksic & Knezevic, 2014). Son yıllarda, özellikle kanser biyolojisi alanında, bitkinin ve onun aktif bileşenlerinin antikanser potansiyeli üzerine odaklanılmıştır. Güncel araştırmalar, bitkinin etanolik yaprak özütünün ve özgün bileşeni mirtukommulonun (MC) çeşitli kanser hücre hatlarında seçici sitotoksikite ve apoptoz indüklemeye yeteneğine sahip olduğunu göstermektedir (Ogur, 2014; Mir vd., 2024). Bu kitap bölümü, son dönem araştırmalar ışığında *Myrtus communis*'in antikanser mekanizmalarını, aktif bileşenlerini ve gelecekteki terapötik potansiyelini sistematik bir şekilde değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

¹ Prof. Dr., Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İbbi Biyokimya AD, Orcid: 0000-0002-5187-378x.

2. Kimyasal Bileşenler ve Ana Aktif Moleküller

M. communis'in terapötik etkileri, yaprak, meyve ve tohumlarında bulunan zengin ve çeşitli fitokimyasallara bağlanmaktadır. Bitkinin biyolojik aktivitelerinden özellikle fenolik bileşikler, uçucu yağlar ve benzersiz asilfloroglukinoller sorumludur.

Fenolik Bileşikler ve Antioksidan Kapasite: Bitkinin meyve kabuğu ve yapraklarında yüksek konsantrasyonda antosiyaninler (petunidin 3-O-glukozit, malvidin 3-O-rutinozit), flavonoidler ve fenolik asitler bulunur. Bu bileşikler, güçlü serbest radikal süpürücü aktivite sergileyerek, kanser patogeneğinde kritik bir rol oynayan oksidatif stresin azaltılmasına katkıda bulunur (Amensour vd., 2009).

Uçucu Yağ Bileşenleri: Mersin uçucu yağının ana bileşenleri arasında 1,8-sineol (ökalipol), α -pinen, linalool, mirtenil asetat ve limonen bulunur (Mohamed vd., 2019). Bu monoterpenler ve terpenoidler, bitkinin antimikrobiyal ve antiinflamatuvar özelliklerinden sorumlu olmakla birlikte, bazı çalışmalar özellikle 1,8-sineolün sitotoksik etkiler gösterdiğini bildirmiştir.

Mirtukommulon (MC): Bitkinin en dikkat çekici spesifik metaboliti, yapraklarda bulunan prenillenmemiş bir asilfloroglukinol olan mirtukommulondur (Appendino vd., 2002). MC, güçlü antiinflamatuvar (5-lipoksijenaz ve siklooksijenaz-1 inhibisyonu yoluyla) ve antikanser aktiviteleriyle öne çıkmaktadır (Feisst vd., 2005; Rossi vd., 2009). Yapı-aktivite ilişkisi çalışmaları, aromatik floroglukinol çekirdeğinin sitotoksik aktivite için gerekli olduğunu göstermiştir (Cottiglia vd., 2012).

3. Antikanser Etkiler ve Hücresel Mekanizmalar

M. communis özütleri ve özellikle MC, çeşitli *in vitro* ve *in vivo* modellerde çok yönlü antikanser etkiler sergilemektedir. Bu etkiler, hücre döngüsü arresti, apoptoz indüksiyonu ve seçici sitotoksisite gibi temel mekanizmalara dayanır.

Seçici Sitotoksosite ve Hücre Canlılığı Üzerine Etkiler: Erken tarama çalışmaları, Mersin uçucu yağının meme ve prostat kanseri hücre hatlarında yüksek inhibisyon oranları gösterirken (%81.4 - %95.2), normal 3T3 fibroblast hücrelerine karşı minimal etki (%3.7 - %6.5) gösterdiğini ortaya koymuştur (Stevens, 2005). Benzer şekilde, MC'nin lösemik hücre hatlarında (HL-60, Mono Mac 6) EC50 değerleri 3-9 μ M aralığındayken, transforme olmamış insan periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) veya fibroblastlar için bu değer 20-50 μ M'nin üzerindedir, bu da kanser hücrelerine karşı belirgin bir seçicilik olduğuna işaret eder (Tretiakova vd., 2008).

Hücre Döngüsü Arrestinin İndüklenmesi: Yakın tarihli bir çalışma, *M. communis* etanolik yaprak özütünün meme (MCF-7), karaciğer (HepG2), serviks (HeLa) ve kolon (HCT116) kanseri hücrelerinde, hücre popülasyonunun G1 fazında önemli bir artışa yol açarak hücre döngüsünü durdurduğunu göstermiştir (Mir vd., 2024). Bu arrest, özütün proliferasyonu inhibe etmesinde temel bir mekanizma olarak görülmektedir.

Apoptozun İndüklenmesi ve Moleküler Yollar: MC'nin antikanser etkisinin merkezinde mitokondriyal (içsel) apoptoz yolunun aktivasyonu yatmaktadır. Bununla birlikte p53 aracılı mekanizma ile apoptozu tetikleyerek melanom G361 hücrelerinde ölümlere neden olmaktadır (Çelik & Kurbasevic, 2021).

Mitokondriyal Yolak: MC, kanser hücrelerinde mitokondriyal membran potansiyelinin ($\Delta\Psi$ m) kaybına ve mitokondrilardan sitokrom c salınımına neden olur (Tretiakova vd., 2008). Salınan sitokrom c, apoptotik peptidaz aktive edici faktör-1 (Apaf-1) ile kompleks oluşturarak kaspaz-9'un aktivasyonunu tetikler.

Kaspaz Kaskadının Aktivasyonu: Aktif kaspaz-9, efektör kaspaz-3'ü parçalar ve aktive eder. Bu süreç, poli(ADP-riboz) polimeraz (PARP) gibi hücre onarım proteinlerinin karakteristik parçalanması ve nükleozom salınımı ile sonuçlanır (Tretiakova vd., 2008). Kaspaz-9 eksikliği olan Jurkat hücrelerinin MC kaynaklı hücre ölümüne dirençli olması, bu yolun merkezi önemini doğrulamaktadır.

Ölüm Reseptör Yolağının Rolü: MC, kaspaz-8 veya FADD eksikliği olan hücrelerde de apoptozu etkili bir şekilde indükleyebilmektedir. Bu bulgu, MC'nin etkisinin CD95 (Fas) gibi ölüm reseptörlerini içeren dışsal yoldan ziyade, mitokondri merkezli içsel yol aracılığıyla gerçekleştiğini göstermektedir (Tretiakova vd., 2008).

In Vivo Etkinlik: Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, bitki özütlerinin terapötik potansiyelini desteklemektedir. Ehrlich tümörlü farelerde, Mersin su özütü veya damıtılmış yağı ile tedavi, kontrol grubuna kıyasla hayatta kalma süresini önemli ölçüde artırmış, bazı çalışmalarda ise histopatolojik olarak tam iyileşme gözlenmiştir (Öztekin vd., 1998; Ogur vd., 2005).

4. Diğer İlgili Biyolojik Aktiviteler ve Kansere İlişkisi

Mersin'in antikanser profilini güçlendiren, kanserle doğrudan veya dolaylı yoldan ilişkili ek farmakolojik özellikleri bulunmaktadır.

Antiinflatuar Aktivite: Kronik inflamasyon, kanser gelişimini ve ilerlemesini destekleyen önemli bir faktördür. MC, 5-lipoksijenaz ve siklooksijenaz-1'i inhibe ederek lökotrien ve prostaglandin sentezini baskılar (Feisst vd., 2005). *In vivo* modellerde, MC'nin karagenan kaynaklı paw ödemi ve plöreziyi, pro-inflatuar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β) ekspresyonunu ve nötrofil infiltrasyonunu azaltarak baskıladığı gösterilmiştir (Rossi vd., 2009). Benzer şekilde, Mersin uçucu yağı, IL-1 β ile uyarılmış bronşiyal epitel hücrelerinde IL-6, IL-10 ve NF- κ B ekspresyonunu inhibe etmiştir (Duran & Terzi, 2021).

Antimikrobiyal ve Antibiyofilm Aktivite: Enfeksiyonlar ve kronik inflamasyon arasındaki bağlantı göz önüne alındığında, Mersin'in antimikrobiyal özellikleri de dolaylı olarak önem taşır. Yeni bir çalışma, etanolik yaprak özütünün, hücre duvarına zarar vererek, hem tüberküloz dışı mikobakterilere (*M. abscessus*, *M. fortuitum*) hem de *M. tuberculosis*'e karşı geniş spektrumlu bir inhibisyon gösterdiğini ortaya koymuştur (Mir vd., 2024). Daha da önemlisi, özüt *M. smegmatis* ve *S. aureus*'ta biyofilm oluşumunu

engellemiş (MBIC: 9.7 µg/mL) ve halihazırda oluşmuş olgun biyofilmleri ortadan kaldırmıştır (Mir vd., 2024).

5. Tartışma ve Gelecek Perspektifi

Mevcut bilimsel veriler, *Myrtus communis* L.'nin, özellikle aktif bileşeni mirtukommulon aracılığıyla, çok yönlü ve seçici antikanser özelliklere sahip olduğunu açıkça göstermektedir. Bitki özütleri ve MC, kanser hücrelerinde G1 fazında hücre döngüsü arrestini tetikleyerek ve mitokondriyal apoptoz yolunu aktive ederek etki göstermekte, aynı zamanda sağlıklı hücrelere karşı nispeten düşük toksisite sergilemektedir. Ek olarak, güçlü antiinflamatuvar ve antimikrobiyal/antibiyofilm aktiviteleri, bitkinin kanser tedavisi ve önlenmesindeki potansiyel rolünü daha da karmaşık ve umut verici hale getirmektedir.

Ancak, bu umut verici prelinik bulguların klinik uygulamaya dönüştürülebilmesi için önünde önemli engeller ve araştırma gereksinimleri bulunmaktadır:

Farmakokinetik ve Güvenlik Profilinin Aydınlatılması: MC'nin insanlardaki emilimi, dağılımı, metabolizması, atılımı ve uzun vadeli toksisitesi sistematik olarak incelenmelidir (Gerbeth vd., 2012).

Hedef Spesifitesinin ve Kombinasyon Stratejilerinin Araştırılması: MC'nin kanser hücrelerinde seçici olarak mitokondriyal apoptozu nasıl tetiklediği (örn., Bcl-2 ailesi proteinleri veya diğer içsel yol düzenleyicileri üzerindeki etkisi) tam olarak anlaşılmalıdır. Ayrıca, geleneksel kemoterapötikler veya immünoterapiler ile sinerjistik etkileri değerlendirilmelidir.

Standardizasyon ve Formülasyon Geliştirme: Terapötik etkinin tekrarlanabilirliği için, aktif bileşen içeriği standart hale getirilmiş ekstraktların veya saf MC'nin stabil farmasötik formülasyonları geliştirilmelidir.

***In Vivo* Kanser Modellerinde Kapsamlı Validasyon:** Mevcut *in vivo* veriler daha çok Ehrlich asit tümörü gibi genel modellerle

sınırlıdır. İnsan kanserinin immünokompetent veya hasta türevi ksenograft (PDX) modellerinde daha kapsamlı etkinlik ve mekanistik çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. Sonuç

Myrtus communis L., zengin bir biyoaktif bileşen kaynağı olarak, kanser kemoterapisi için yeni nesil ilaç adaylarının keşfinde önemli bir doğal kaynak konumundadır. Özellikle mirtukommulon, mitokondriyal apoptoz yolu üzerinden kanser hücrelerine karşı gösterdiği seçici sitotoksiste ile dikkat çekmektedir. Bitkinin antikanser etkilerine, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal özellikleri de eşlik etmekte, bu da onu çok yönlü bir terapötik profil için güçlü bir aday haline getirmektedir. Mevcut bulgular, prelinik araştırmaların devam etmesi ve yukarıda belirtilen kritik engellerin aşılması koşuluyla, Mersin türevi bileşiklerin gelecekte kanser tedavi protokollerinde tamamlayıcı veya ana ajanlar olarak yer alabileceğine işaret etmektedir.

M. communis'in antikanser potansiyelini gösteren çalışmalar, çeşitli ekstrakt türleri, aktif bileşenler, kanser modelleri ve etki mekanizmaları üzerine odaklanmıştır. Aşağıdaki tablolar (Tablo 1 ve Tablo 2), bu alandaki ana bulguları özetlemektedir.

Tablo 1: *Myrtus communis* Ekstraktlarının In Vitro ve In Vivo Antikanser Etkileri

Ekstrakt	Kanser Modeli/Hücre Hattı	Ana Bulgular	Çalışma
Etanolik Ekstrakt	Sıçan karaciğer mikrozomları	Aril Hidrokarbon Hidroksilaz (AHH) aktivitesini ve 3H-Benzo(a)piren'in (3H-BP) proteine bağlanmasını inhibe etmiştir. Karsinojen aktivasyonunu engelleyici etki.	Alwan vd., 1989
nButanol Ekstraktı	In vitro DNA bağlanma testi	3H-BP'nin DNA'ya bağlanmasını inhibe etmiştir. Sulu ekstraktlar etkisiz bulunmuştur.	Alwan vd., 1989
Sulu Ekstrakt	Ehrlich asit tümörlü fareler (In vivo)	Tümör enjeksiyonu ile eş zamanlı uygulandığında, histopatolojik olarak doğrulanmış tam iyileşme sağlamıştır.	Ogur vd., 2005
Etanolik Yaprak Ekstraktı	MCF-7, HepG2, HeLa, HCT116 hücreleri	Tüm hatlarda doza bağımlı büyüme inhibisyonu. En düşük IC50 değeri HeLa hücrelerinde (33.3 µg/mL) gözlenmiştir. Hücre döngüsü G1 fazında arrest.	Mir vd., 2024

Bu tablo, bitkinin farklı hazırlanma şekillerinin çeşitli deneysel modellerdeki etkinliğini göstermektedir.

Tablo 2: Aktif Bileşen Mirtukommulon (MC)'un Antikanser Mekanizmaları

Etki Mekanizması	Spesifik Bulgu	Deneyisel Kanıt	Çalışma
Apoptoz İndüksiyonu	Kaspaz-9, -3 aktivasyonu ve PARP proteininin parçalanması.	HL-60 ve Mono Mac 6 lösemi hücrelerinde 24 saat içinde karakteristik apoptoz belirteçleri gözlemlendi.	Tretiakova vd., 2008
Mitokondriyal Yol Aktivasyonu	Mitokondriyal membran potansiyelinde kayıp ve sitokrom c salınımı.	MM6 hücrelerinde MC, konsantrasyona bağlı membran potansiyel kaybına ve sitozole sitokrom c salınımına neden oldu.	Tretiakova vd., 2008
Seçici Sitotoksiste	Kanser hücrelerine karşı normal hücrelere kıyasla belirgin derecede yüksek potens.	EC50: Lösemi hücreleri için 3-9 μ M; normal insan PBMC'leri için >20-50 μ M.	Tretiakova vd., 2008
Ölüm Reseptör Yolundan Bağımsızlık	FADD veya kaspaz-8 eksik hücrelerde apoptoz indüklemeye.	FADD veya kaspaz-8 eksik Jurkat hücreleri MC'ye duyarlı kaldı.	Tretiakova vd., 2008
Kaspaz-9 Bağımlılık	İçsel apoptoz yolunun merkezi rolü.	Kaspaz-9 eksik Jurkat hücreleri MC'ye dirençliydi; kaspaz-9 geri getirildiğinde duyarlılık yeniden kazanıldı.	Tretiakova vd., 2008

Bu tablo, MC'nin moleküler düzeydeki spesifik etki mekanizmalarını özetler.

Kaynakça

Aleksic, V., & Knezevic, P. (2014). Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological Research*, 169(3), 240-254.

Alipour, G., Dashti, S., & Hosseinzadeh, H. (2014). Review of pharmacological effects of *Myrtus communis* L. and its active constituents. *Phytotherapy Research*, 28(8), 1125-1136.

Amensour, M., Sendra, E., Abrini, J., Bouhdid, S., Pérez-Alvarez, J. A., & Fernández-López, J. (2009). Total phenolic content and antioxidant activity of myrtle (*Myrtus communis*) extracts. *Natural Product Communications*, 4(6), 819-822.

Appendino, G., Bianchi, F., Minassi, A., Sterner, O., Ballero, M., & Gibbons, S. (2002). Oligomeric acylphloroglucinols from myrtle (*Myrtus communis*). *Journal of Natural Products*, 65(3), 334-338.

Cottiglia, F., Casu, L., Leonti, M., Caboni, P., Floris, C., Busonera, B., & Sosa, S. (2012). Cytotoxic phloroglucinols from the leaves of *Myrtus communis*. *Journal of Natural Products*, 75(2), 225-229.

Çelik, S. & Kurbasevic, E. (2021). *Myrtus Communis* (Mersin Bitkisi)'in İnsan Melanom Hücrelerinde Antikanser Etkinliğinin Araştırılması, Proje Kesin Raporu, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Lisans Üstü Eğitim Enstitüsü, Biyokimya, Afyonkarahisar.

Duran, G. G., & Terzi, M. Y. (2021). Investigation of anti-inflammatory effects of *Myrtus communis* L. essential oil on IL-1 β induced human bronchial epithelial cell line. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 41(4), 470-477.

Feisst, C., Franke, L., Appendino, G., & Werz, O. (2005). Identification of molecular targets of the oligomeric nonprenylated acylphloroglucinols from myrtle (*Myrtus communis*) and their implication as anti-inflammatory compounds. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 315(1), 389-396.

Gerbeth, K., Hüsch, J., Meins, J., Rossi, A., Sautebin, L., Wiechmann, K., & Abdel-Tawab, M. (2012). Myrtucommulone from *Myrtus communis*: Metabolism, permeability, and systemic exposure in rats. *Planta Medica*, 78(18), 1932-1938.

Mir, M. A., Memish, L. A., Elbehairi, S. E., Bashir, N., Masoud, F. S., Shati, A. A., & Ahmad, I. (2024). Antimycobacterial and anticancer properties of *Myrtus communis* leaf extract. *Pharmaceuticals*, 17(7), 872.

Mohamed, M. E., Mohafez, O. M., Khalil, H. E. & Alhaider, I. A. (2019). Essential oil from myrtle leaves growing in the eastern part of Saudi Arabia: Components, anti-inflammatory and cytotoxic activities. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 22(4), 877-892.

Ogur, R. (2014). Studies with *Myrtus communis* L.: Anticancer properties. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 3(4), 135-137.

Ogur, R., Deniz, G., Tekbas, O. F., & Hasde, M. (2005). The anticancer effect of AR-11 on Erlich ascites tumor in mice [Conference abstract]. 2nd International Conference on Tumor Progression & Therapeutic Resistance, GTCbio.

Öztekin, M., Koyuncu, H., Petek, M., Ulaşlı, M. & Unan, S. (1998). The effect of *Myrtus communis* L. oil on Ehrlich tumor [Conference abstract]. 2nd Balkan Oncology Union Congress.

Özkan, A. M., & Güray, Ç. G. (2009). *A Mediterranean: Myrtus communis* L. (Myrtle). Edipuglia Srl.

Rossi, A., Di Paola, R., Mazzon, E., Genovese, T., Caminiti, R., Bramanti, P. & Cuzzocrea, S. (2009). Myrtucommulone from *Myrtus communis* exhibits potent anti-inflammatory effectiveness *in vivo*. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 329(1), 76-86.

Stevens, N. (2005). *Natural synergy: Essential oils in cancer research* [Presentation]. UNLV Cancer Research Institute at Brigham Young University.

Tretiakova, I., Blaesius, D., Maxia, L., Wesselborg, S., Schulze-Osthoff, K., Cinatl, J. & Werz, O. (2008). Myrtucommulone from *Myrtus communis* induces apoptosis in cancer cells via the mitochondrial pathway involving caspase-9. *Apoptosis*, 13(1), 119-131.

BÖLÜM 7

VIAMIN D DEFICIENCY: PREVALENCE, DETERMINANTS, and TREATMENT STRATEGIES

Muzaffer KATAR1

Introduction

Vitamin D deficiency has emerged as one of the most widespread micronutrient deficiencies globally and represents a substantial public health challenge affecting populations across all age groups and geographic regions(M. F. Holick, 2005). Vitamin D, a fat-soluble secosteroid hormone, is essential for maintaining calcium and phosphorus homeostasis, ensuring optimal skeletal mineralization, and supporting a wide range of physiological processes. Traditionally, vitamin D deficiency was primarily associated with classical skeletal disorders such as rickets in children and osteomalacia in adults(M Holick, 2007). However, contemporary research has expanded this perspective, demonstrating that inadequate vitamin D status is associated with a broad spectrum of adverse health outcomes, including osteoporosis, muscle weakness, increased fracture risk, immune dysregulation, metabolic

¹ Doçent Doktor, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Tıbbi Biyokimya A.D., Orcid: 0000 0002 6296 2390

disorders, and susceptibility to infectious diseases (M Holick, 2007; Mogire et al., 2020).

Despite increased scientific attention and public awareness, vitamin D deficiency remains highly prevalent worldwide. Importantly, deficiency is not confined to regions with limited sunlight exposure. Epidemiological studies consistently show high prevalence rates in sun-rich regions, challenging the assumption that ultraviolet radiation availability alone is sufficient to maintain adequate vitamin D status. This paradox highlights the multifactorial nature of vitamin D deficiency and underscores the importance of behavioral, environmental, sociocultural, and dietary determinants (Mogire et al., 2020; Palacios & Gonzalez, 2014).

Rapid urbanization, changes in occupational patterns, reduced outdoor activity, and increased time spent indoors have substantially altered human exposure to sunlight. These lifestyle transitions are particularly pronounced in low- and middle-income countries, where urban growth has accelerated over recent decades (WHO, 2011). Concurrently, air pollution in urban environments reduces ultraviolet B (UVB) penetration, further limiting cutaneous vitamin D synthesis. Cultural practices, including clothing styles that limit skin exposure, and intentional sun avoidance due to cosmetic or health concerns also contribute significantly to reduced vitamin D production (Ovesen, Andersen, & Jakobsen, 2003).

Dietary intake represents another critical factor influencing vitamin D status. Natural food sources of vitamin D are limited, and in many regions, food fortification policies are absent or inconsistently implemented. Consequently, populations that rely primarily on unfortified diets are at increased risk of deficiency (Tylavsky, Cheng, Lyytikäinen, Viljakainen, & Lamberg-Allardt, 2006). These challenges are compounded by socioeconomic disparities that influence dietary quality, healthcare access, and

opportunities for preventive interventions. Collectively, these factors explain why vitamin D deficiency persists across diverse populations despite advances in nutritional science and healthcare delivery (Cashman et al., 2016).

From a public health perspective, vitamin D deficiency poses a significant burden due to its association with musculoskeletal disorders, increased healthcare utilization, and long-term morbidity. The global scale of the problem necessitates a comprehensive understanding of vitamin D biology, epidemiology, and population-level determinants. This chapter therefore aims to synthesize current evidence on vitamin D metabolism and physiological roles, followed by a detailed examination of the global prevalence of vitamin D deficiency, drawing primarily on large-scale systematic reviews and meta-analyses (Islam, Bhuiyan, Akhtaruzzaman, Allardt, & Fogelholm, 2022).

Vitamin D Metabolism and Physiological Roles

Vitamin D is unique among vitamins in that it functions as a hormone and can be synthesized endogenously in the skin following exposure to ultraviolet B radiation. Cutaneous synthesis begins when UVB photons convert 7-dehydrocholesterol to previtamin D₃, which is subsequently isomerized to cholecalciferol (vitamin D₃). In addition to endogenous production, vitamin D can be obtained through dietary intake, primarily from fatty fish, egg yolk, liver, and fortified foods, as well as from supplements in the form of vitamin D₂ (ergocalciferol) or vitamin D₃ (cholecalciferol) (Michael F Holick & Chen, 2008).

Following synthesis or ingestion, vitamin D undergoes two sequential hydroxylation steps to become biologically active. The first hydroxylation occurs in the liver, producing 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D], which is the major circulating form and the most reliable indicator of vitamin D status. The second hydroxylation

takes place predominantly in the kidneys, generating 1,25-dihydroxyvitamin D, the hormonally active form that exerts its effects through binding to the vitamin D receptor (VDR). This tightly regulated process ensures precise control of calcium and phosphate metabolism (M Holick, 2007).

The vitamin D receptor is expressed in a wide variety of tissues, including bone, skeletal muscle, immune cells, pancreas, cardiovascular tissue, and the brain. This widespread distribution explains the pleiotropic effects of vitamin D and its involvement in numerous physiological processes beyond bone health. In skeletal tissue, vitamin D promotes intestinal calcium absorption and facilitates proper bone mineralization. Deficiency disrupts these processes, leading to secondary hyperparathyroidism, increased bone turnover, and reduced bone density (M Holick, 2007).

In skeletal muscle, vitamin D plays a role in muscle fiber composition and function. Low vitamin D levels have been associated with muscle weakness, impaired balance, and increased risk of falls, particularly among older adults. These effects contribute indirectly to fracture risk and functional decline. The presence of VDRs in muscle tissue supports a direct mechanistic role for vitamin D in maintaining neuromuscular integrity (Mogire et al., 2020).

Vitamin D also exerts important immunomodulatory effects. It influences both innate and adaptive immune responses by regulating cytokine production, enhancing antimicrobial peptide synthesis, and modulating T-cell differentiation (Pludowski et al., 2013). Observational studies summarized in large-scale reviews suggest that vitamin D deficiency is associated with increased susceptibility to respiratory infections and may influence the severity of infectious diseases, although causal relationships continue to be investigated (Mogire et al., 2020).

Metabolic functions of vitamin D have gained increasing attention in recent years. Vitamin D receptors and activating enzymes are expressed in pancreatic β -cells and adipose tissue, suggesting a role in glucose metabolism and insulin sensitivity(Autier, Boniol, Pizot, & Mullie, 2014). Epidemiological evidence indicates an association between low vitamin D status and metabolic disorders, including type 2 diabetes mellitus, although interventional studies have yielded mixed results(Grant et al., 2015). These findings highlight the complexity of vitamin D biology and the need for further research to clarify its role in metabolic regulation(Palacios & Gonzalez, 2014).

Global Prevalence of Vitamin D Deficiency

Vitamin D deficiency is a global health problem of considerable magnitude, affecting an estimated one billion individuals worldwide. Systematic reviews and meta-analyses consistently demonstrate that low serum 25(OH)D concentrations are prevalent across continents, regardless of latitude or level of economic development. These findings challenge earlier assumptions that vitamin D deficiency is primarily a concern in high-latitude regions and underscore its global relevance (Cashman et al., 2016; Mogire et al., 2020).

In Europe, population-based studies report high prevalence rates of vitamin D deficiency, particularly during winter months when UVB radiation is insufficient for cutaneous synthesis. Older adults, institutionalized individuals, and ethnic minorities are disproportionately affected. Seasonal fluctuations in serum 25(OH)D concentrations are well documented, with nadirs observed in late winter and early spring (Cashman et al., 2016).

In Asia and the Middle East, vitamin D deficiency is highly prevalent despite abundant sunlight. Sociocultural practices that

limit skin exposure, combined with urban living and dietary insufficiency, contribute significantly to low vitamin D status. Women of reproductive age are particularly vulnerable in these regions, reflecting the intersection of biological and sociocultural determinants (Palacios & Gonzalez, 2014).

Africa presents a unique and paradoxical epidemiological profile. A comprehensive systematic review and meta-analysis published evaluated vitamin D status across multiple African countries and reported that approximately one-third of the population had serum 25(OH)D concentrations below commonly accepted deficiency thresholds (Mogire et al., 2020). Notably, substantial heterogeneity was observed between regions, with higher prevalence rates in Northern Africa and South Africa compared with sub-Saharan regions.

Urbanization emerged as a consistent determinant of vitamin D deficiency across African populations. Urban residents exhibited significantly lower vitamin D levels compared with rural populations, reflecting reduced outdoor activity, occupational shifts, and increased air pollution. Vulnerable groups included newborns, infants, women, and older adults. These findings highlight the influence of rapid socioeconomic transitions on nutritional status and challenge the notion that geographic location alone determines vitamin D sufficiency (Mogire et al., 2020).

Globally, the persistence of vitamin D deficiency reflects the convergence of environmental, behavioral, and structural factors. Limited dietary sources, inadequate fortification policies, and unequal access to supplementation contribute to widespread insufficiency (Calvo, Whiting, & Barton, 2004). From a public health standpoint, the global prevalence of vitamin D deficiency underscores the need for coordinated strategies that integrate nutritional policy, clinical practice, and population-level interventions (Cashman et al., 2016).

Vitamin D deficiency represents a significant and underrecognized public health issue across the African continent. Despite Africa's generally favorable climatic conditions and high levels of annual sunlight, population-based studies consistently demonstrate a substantial burden of vitamin D deficiency. A comprehensive systematic review and meta-analysis synthesized data from multiple African countries and reported that approximately one-third of individuals had serum 25-hydroxyvitamin D concentrations below commonly accepted deficiency thresholds (Mogire et al., 2020).

Marked heterogeneity in vitamin D status exists across African regions. Northern Africa and South Africa exhibit higher prevalence rates of deficiency compared with many sub-Saharan regions (Barendregt, Doi, Lee, Norman, & Vos, 2013). This variation reflects differences in latitude, skin pigmentation, cultural practices, dietary patterns, and levels of urbanization (Durazo-Arvizu et al., 2014). Importantly, the meta-analysis demonstrated that geographic location alone does not adequately explain vitamin D status, emphasizing the role of social and behavioral determinants (Mogire et al., 2020).

Urban populations consistently showed lower serum 25(OH)D concentrations compared with rural populations. Urbanization in Africa has accelerated rapidly over recent decades, leading to profound changes in occupational patterns, housing structures, and daily activities (Arabi, El Rassi, & El-Hajj Fuleihan, 2010). Increased indoor work, reduced engagement in outdoor labor, and limited exposure to direct sunlight contribute substantially to reduced cutaneous vitamin D synthesis among urban residents (Wahlqvist, 2013). These effects are further exacerbated by air pollution, which attenuates ultraviolet B radiation and limits effective vitamin D production in the skin (Mogire et al., 2020).

Vulnerable population groups in Africa include newborns, infants, women of reproductive age, and older adults (Mahmood et al., 2017). Neonates are particularly at risk due to their reliance on maternal vitamin D stores, which are often inadequate. Studies summarized in the meta-analysis indicate that vitamin D deficiency is common among pregnant women, thereby predisposing newborns to low vitamin D status at birth (Boyle et al., 2016; Mogire et al., 2020). These findings highlight the intergenerational nature of vitamin D deficiency and underscore the importance of maternal nutrition and supplementation strategies.

From a public health perspective, the high prevalence of vitamin D deficiency in Africa has important implications. Skeletal disorders such as rickets and osteomalacia remain prevalent in certain regions, while emerging evidence suggests that vitamin D deficiency may also contribute to the burden of infectious and metabolic diseases. Addressing vitamin D deficiency in Africa therefore requires context-specific interventions that account for sociocultural norms, dietary practices, and rapid urban development (M Holick, 2007).

Age- and Sex-Specific Patterns of Vitamin D Deficiency

Vitamin D status exhibits pronounced variation across age groups and between sexes, reflecting differences in physiological requirements, behavior, and sociocultural factors (Autier et al., 2014). Evidence from African populations demonstrates that newborns and infants represent one of the most vulnerable groups. Serum 25(OH)D concentrations in neonates are closely correlated with maternal vitamin D status, and maternal deficiency is highly prevalent in many African settings (Mogire et al., 2020).

During childhood, vitamin D deficiency remains common, particularly in urban environments. Although children generally

spend more time outdoors than adults, factors such as school attendance, indoor leisure activities, and limited dietary intake of vitamin D contribute to insufficient levels. Inadequate vitamin D during periods of rapid growth may impair bone mineralization and increase the risk of rickets, which remains a public health concern in several African countries (Bouillon et al., 2019; Mogire et al., 2020).

Adolescence represents a critical period for skeletal development, characterized by increased vitamin D requirements to support peak bone mass acquisition. However, adolescents often experience declining vitamin D status due to lifestyle changes, including reduced outdoor activity and increased sedentary behavior. Although data on adolescents in Africa are relatively limited, available evidence suggests that deficiency rates remain substantial, particularly among females (Barendregt et al., 2013; Mogire et al., 2020).

Sex-specific differences in vitamin D status are consistently reported across African populations. Women, especially those of reproductive age, tend to have lower serum 25(OH)D concentrations compared with men. This disparity is largely attributable to sociocultural practices that limit sun exposure, such as clothing styles that cover most of the body, as well as gender-specific roles that reduce time spent outdoors. Pregnancy further increases vitamin D requirements, placing women at heightened risk of deficiency during this period (Mogire et al., 2020; Saraf, Morton, Camargo Jr, & Grant, 2016).

Older adults constitute another high-risk group due to age-related reductions in cutaneous vitamin D synthesis, limited mobility, and chronic comorbidities (Barendregt et al., 2013). In African settings, older adults may also experience nutritional inadequacies and reduced healthcare access, compounding the risk of deficiency. The convergence of biological aging and social vulnerability underscores the need for age- and sex-specific

approaches to vitamin D assessment and intervention (Bouillon, 2017).

Lifestyle, Urbanization, and Environmental Factors

Lifestyle factors play a central role in shaping vitamin D status, particularly in the context of rapid urbanization and socioeconomic transformation (Olimid & Olimid, 2019). Across Africa, traditional lifestyles characterized by outdoor labor and sun exposure are increasingly being replaced by sedentary, indoor occupations. This shift has profound implications for vitamin D synthesis, as reduced skin exposure to ultraviolet B radiation directly limits endogenous production (Manios et al., 2017; Mogire et al., 2020).

Urbanization is consistently associated with lower vitamin D levels. Urban residents are more likely to work indoors, live in high-density housing with limited outdoor space, and experience environmental barriers to sun exposure. High-rise buildings, narrow streets, and indoor-oriented lifestyles reduce the opportunity for direct sunlight exposure. These factors collectively contribute to the observed urban–rural gradient in vitamin D status reported across African populations (Lenhardt, 2024; Mogire et al., 2020).

Environmental pollution further exacerbates the impact of urbanization on vitamin D synthesis. Airborne particulate matter absorbs and scatters ultraviolet radiation, reducing the amount of UVB that reaches the skin. Studies summarized in the African meta-analysis suggest that populations living in highly polluted urban centers exhibit lower serum 25(OH)D concentrations compared with those in less polluted environments, independent of latitude and season (MF Holick, 2007; Mogire et al., 2020).

Lifestyle-related sun avoidance behaviors also contribute to vitamin D deficiency. Concerns about skin damage, heat exposure, and cosmetic preferences may lead individuals to limit sun exposure intentionally. In some cultural contexts, lighter skin tone is socially valued, further encouraging sun avoidance. These behaviors disproportionately affect women and urban populations, reinforcing existing sex- and location-based disparities in vitamin D status (T KADAKIA & Galea, 2023; WHO, 2011).

Dietary patterns intersect with lifestyle and environmental factors to influence vitamin D status. In many African countries, diets are predominantly plant-based and contain minimal natural sources of vitamin D. Limited access to fortified foods and supplements further constrains dietary vitamin D intake (Manios et al., 2017). Urbanization often leads to dietary transitions toward processed foods that may still lack adequate fortification, thereby failing to compensate for reduced endogenous synthesis (Mogire et al., 2020).

Climate and seasonal variation also modulate vitamin D status, although their effects are less pronounced in equatorial regions. Nonetheless, seasonal changes in cloud cover, rainfall, and outdoor activity patterns can influence sun exposure and contribute to intra-annual fluctuations in serum 25(OH)D concentrations. These effects may be amplified in urban settings where baseline sun exposure is already limited (Lips et al., 2019).

Dietary and Nutritional Determinants of Vitamin D Deficiency

Dietary intake constitutes a fundamental determinant of vitamin D status, particularly in populations where endogenous synthesis is limited by lifestyle, environmental, or cultural factors. Unlike many other micronutrients, vitamin D is naturally present in a relatively small number of foods, primarily fatty fish, liver, egg yolk, and certain animal-derived products. Consequently,

populations that rely predominantly on plant-based diets are at increased risk of vitamin D deficiency, especially in the absence of food fortification strategies (Manios et al., 2017; Mogire et al., 2020).

Across African populations, dietary patterns are characterized by limited consumption of vitamin D-rich foods. Traditional diets in many regions emphasize cereals, legumes, and vegetables, which contain negligible amounts of vitamin D. The systematic review data indicate that inadequate dietary intake contributes substantially to the high prevalence of deficiency observed across diverse African settings, particularly among socioeconomically disadvantaged groups (Mogire et al., 2020; Ross et al., 2011). This dietary insufficiency is further compounded by limited access to fortified foods, which remain uncommon in many African countries.

Food fortification represents a critical nutritional determinant influencing population vitamin D status. In regions where fortification policies are absent or inconsistently implemented, dietary intake alone is insufficient to meet physiological requirements (Spiro & Buttriss, 2014). Evidence summarized in the reviewed PDFs highlights that countries lacking mandatory fortification programs exhibit higher prevalence rates of vitamin D deficiency compared with regions where fortification of staple foods is routinely practiced (Calvo et al., 2004; Mogire et al., 2020). These findings underscore the importance of policy-level nutritional interventions in addressing deficiency.

Calcium intake interacts closely with vitamin D metabolism and influences the functional consequences of deficiency. Low dietary calcium intake, which is common in many African diets due to limited dairy consumption, exacerbates the skeletal effects of vitamin D deficiency by increasing parathyroid hormone secretion and accelerating bone resorption. The coexistence of low calcium

and vitamin D intake therefore represents a synergistic risk factor for bone disease in affected populations (Mogire et al., 2020; Prentice, Schoenmakers, Jones, Jarjou, & Goldberg, 2009).

Nutritional vulnerability is particularly pronounced among women of reproductive age, pregnant women, and infants. Maternal dietary inadequacy directly influences fetal and neonatal vitamin D status, as fetal stores depend entirely on maternal supply. Studies included in the meta-analysis demonstrate a strong association between maternal deficiency and low neonatal 25(OH)D concentrations, highlighting the intergenerational transmission of nutritional risk (Adger, 2006; Mogire et al., 2020).

Urbanization has also altered dietary patterns in ways that affect vitamin D intake. While urban diets may include more processed foods, these products are not necessarily fortified with vitamin D. As a result, dietary transitions associated with urban living do not reliably compensate for reduced sun exposure. This nutritional gap reinforces the urban–rural disparity in vitamin D status observed across African populations (Lenhardt, 2024; Mogire et al., 2020).

Health Consequences of Vitamin D Deficiency

Vitamin D deficiency has well-established adverse effects on skeletal health and is a recognized cause of rickets in children and osteomalacia in adults. These conditions arise from impaired calcium absorption, secondary hyperparathyroidism, and defective bone mineralization. In African populations, where dietary calcium intake is often low, the skeletal consequences of vitamin D deficiency may be particularly severe (Michael F Holick et al., 2011; Mogire et al., 2020).

In children, vitamin D deficiency disrupts normal bone growth and development, leading to rickets characterized by bone deformities, delayed growth, and increased fracture risk. The persistence of rickets in several African countries reflects ongoing nutritional inadequacies and highlights the continued public health relevance of vitamin D deficiency in pediatric populations (Abdel-Mohsen, El-Braky, Ghazal, & Shamseya, 2018; Mogire et al., 2020).

Among adults, chronic vitamin D deficiency contributes to osteomalacia, reduced bone mineral density, and osteoporosis. These conditions are associated with increased fracture risk, chronic pain, and functional impairment. Older adults are particularly vulnerable due to age-related declines in cutaneous synthesis, limited mobility, and coexisting comorbidities. The resulting increase in falls and fractures imposes a substantial burden on healthcare systems and families (Mogire et al., 2020; Munns et al., 2016).

Beyond skeletal outcomes, vitamin D deficiency has been associated with a range of non-skeletal health consequences. The reviewed PDFs highlight associations between low vitamin D status and increased susceptibility to infectious diseases, reflecting the immunomodulatory role of vitamin D (Michael F Holick et al., 2011). Vitamin D influences innate immune responses by regulating antimicrobial peptide production and modulating inflammatory pathways. Deficiency may therefore impair host defense mechanisms, particularly in populations already burdened by infectious diseases (Arabi et al., 2010; Mogire et al., 2020).

Metabolic and cardiometabolic consequences of vitamin D deficiency have also been reported. Observational studies summarized in the systematic reviews suggest associations between low serum 25(OH)D concentrations and insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, and adverse cardiovascular outcomes. Although causality cannot be definitively established from observational data, these associations raise important concerns given the high

prevalence of vitamin D deficiency and the growing burden of non-communicable diseases in Africa (Mogire et al., 2020; Piskorz et al., 2024).

Maternal and neonatal health outcomes represent another critical domain affected by vitamin D deficiency. Maternal deficiency has been linked to adverse pregnancy outcomes, including low birth weight and impaired fetal skeletal development. Neonates born to vitamin D-deficient mothers often exhibit low vitamin D status, increasing their risk of early-life deficiency and associated complications (Mogire et al., 2020; Saraf et al., 2016).

Diagnosis and Assessment of Vitamin D Deficiency

Accurate diagnosis and assessment of vitamin D status are essential for identifying at-risk individuals and guiding appropriate interventions. Serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] concentration is widely accepted as the most reliable biomarker of vitamin D status, as it reflects both endogenous synthesis and dietary intake. The reviewed PDFs consistently utilize serum 25(OH)D as the primary outcome measure in prevalence studies and meta-analyses (Islam et al., 2022; Mogire et al., 2020).

Although there is ongoing debate regarding optimal thresholds, many studies define vitamin D deficiency using cut-off values below 50 nmol/L. Some analyses also classify insufficiency as serum concentrations between 50 and 75 nmol/L. These thresholds provide a practical framework for epidemiological assessment and clinical decision-making, particularly in population-based studies (Mogire et al., 2020; Prentice et al., 2009).

Interpretation of serum 25(OH)D concentrations must account for several methodological considerations. Assay variability remains a significant challenge, as different laboratory methods may

yield differing results. Seasonal variation also influences serum vitamin D levels, with lower concentrations typically observed during periods of reduced sun exposure. These factors complicate cross-study comparisons and underscore the need for standardized measurement approaches (Mogire et al., 2020).

Population-specific factors further influence the assessment of vitamin D status. Skin pigmentation, body composition, age, and comorbid conditions can affect vitamin D metabolism and circulating concentrations. In African populations, darker skin pigmentation reduces cutaneous synthesis efficiency, necessitating longer sun exposure to achieve equivalent vitamin D production compared with lighter-skinned populations (Martin, Gowda, & Renzaho, 2016; Mogire et al., 2020).

Screening strategies should prioritize high-risk groups, including pregnant women, infants, older adults, urban residents, and individuals with limited sun exposure or poor dietary intake. In resource-limited settings, widespread population screening may not be feasible; therefore, targeted assessment approaches are recommended to optimize resource allocation and public health impact (Jago et al., 2006; Mogire et al., 2020).

Treatment of Vitamin D Deficiency

The treatment of vitamin D deficiency aims to restore adequate serum 25-hydroxyvitamin D concentrations, alleviate clinical manifestations, and prevent long-term skeletal and non-skeletal complications (Michael F Holick, 2011). Evidence synthesized in large-scale reviews and meta-analyses indicates that oral vitamin D supplementation is the most effective and practical therapeutic approach across diverse populations, including those in African settings (Mogire et al., 2020).

The choice of treatment strategy should be guided by baseline vitamin D status, age, physiological state, and the presence

of comorbid conditions. Individuals with severe deficiency require more intensive supplementation regimens compared with those with mild insufficiency. In populations with chronically low sun exposure, dietary inadequacy, or increased physiological demand, sustained supplementation is necessary to achieve and maintain optimal vitamin D levels (Mogire et al., 2020; Ochs, 2013).

Loading-dose regimens are commonly used to rapidly correct severe vitamin D deficiency. These regimens involve administering higher doses of vitamin D over a defined period to replenish depleted body stores. Evidence summarized in the reviewed PDFs suggests that such approaches are effective in increasing serum 25(OH)D concentrations in both adult and pediatric populations, provided that appropriate monitoring is undertaken (Mogire et al., 2020). Following repletion, therapy is essential to prevent recurrence, particularly in individuals with persistent risk factors. Maintenance dosing strategies aim to sustain adequate vitamin D levels over time (Hollis, 2005). These regimens are particularly important in African populations experiencing rapid urbanization, where lifestyle-related reductions in sun exposure are unlikely to be reversed. Long-term supplementation has been shown to be safe when administered within recommended ranges and is critical for populations such as older adults, women of reproductive age, and individuals with limited dietary intake of vitamin D (Mogire et al., 2020).

Calcium intake plays a complementary role in the treatment of vitamin D deficiency. Low dietary calcium intake, which is common in many African diets, can blunt the skeletal benefits of vitamin D supplementation. The reviewed evidence emphasizes that combined strategies addressing both vitamin D and calcium insufficiency are necessary to optimize bone health outcomes, particularly in populations at risk of rickets, osteomalacia, and osteoporosis (Craviari et al., 2008; Mogire et al., 2020).

Special consideration should be given to high-risk groups. Pregnant women represent a key target population, as maternal vitamin D status directly influences fetal and neonatal vitamin D stores. Supplementation during pregnancy has been shown to improve maternal serum 25(OH)D concentrations and reduce the risk of neonatal deficiency. Similarly, infants born to vitamin D–deficient mothers benefit from early supplementation to prevent rickets and support normal skeletal development (Mogire et al., 2020; Tylavsky et al., 2006).

Older adults also require tailored treatment strategies due to age-related reductions in cutaneous synthesis and dietary intake. In this population, vitamin D supplementation contributes not only to improved bone health but also to enhanced muscle function and reduced fall risk. These benefits are particularly relevant in African settings where access to fracture care and rehabilitation services may be limited (Craviari et al., 2008; Mogire et al., 2020).

Monitoring treatment response is an important component of clinical management. Measurement of serum 25(OH)D concentrations allows clinicians to assess the effectiveness of supplementation and adjust dosing as needed. However, the reviewed PDFs acknowledge that routine monitoring may not be feasible in all settings due to resource constraints. In such contexts, standardized supplementation protocols for high-risk groups may represent a pragmatic alternative (Islam et al., 2022; Mogire et al., 2020).

Overall, the treatment of vitamin D deficiency requires a context-specific approach that accounts for local dietary patterns, healthcare infrastructure, and population risk profiles. In African populations, strategies that combine supplementation with broader nutritional and public health interventions are likely to yield the greatest benefit.

Prevention and Public Health Strategies

Preventing vitamin D deficiency at the population level necessitates comprehensive public health strategies that address the underlying determinants of inadequate vitamin D status. Evidence from systematic reviews indicates that prevention efforts are more cost-effective and sustainable than treatment alone, particularly in resource-limited settings (Michael F Holick et al., 2011; Mogire et al., 2020).

Food fortification is widely recognized as one of the most effective public health strategies for improving vitamin D status across populations. Fortification of commonly consumed staple foods can increase dietary vitamin D intake without requiring individual behavior change. However, the reviewed PDFs highlight that fortification policies are inconsistently implemented across African countries, contributing to persistent dietary insufficiency (Mogire et al., 2020; Spiro & Buttriss, 2014).

Targeted supplementation programs represent another key preventive strategy. High-risk groups, including pregnant women, infants, young children, and older adults, benefit most from routine supplementation. Integrating vitamin D supplementation into existing maternal and child health programs offers an efficient means of reaching vulnerable populations. Such approaches are particularly relevant in African settings, where antenatal and immunization services provide established platforms for nutritional interventions (Mogire et al., 2020; Spiro & Buttriss, 2014).

Public education and awareness campaigns play an important role in prevention by promoting safe sun exposure practices and improving understanding of vitamin D's health benefits. However, the effectiveness of such campaigns depends on cultural acceptability and environmental feasibility. In urban environments

characterized by high temperatures, air pollution, and limited outdoor space, behavioral interventions alone may be insufficient to ensure adequate vitamin D synthesis (Ahmed et al., 2020; Mogire et al., 2020).

Urban planning and environmental policies also influence vitamin D status (Lenhardt, 2024). The reviewed evidence suggests that urban design features that limit access to outdoor spaces and natural sunlight may inadvertently contribute to vitamin D deficiency. While large-scale structural changes are challenging, incorporating considerations of health-promoting environments into urban development may yield long-term benefits (Mogire et al., 2020).

Addressing dietary determinants through agricultural and food system interventions represents another important preventive approach. Encouraging the production and consumption of vitamin D-rich foods, where culturally acceptable and economically feasible, may complement fortification and supplementation strategies. Nonetheless, the reviewed PDFs emphasize that dietary approaches alone are unlikely to meet population vitamin D requirements in the absence of fortification (Manios et al., 2017; Mogire et al., 2020).

Monitoring and surveillance systems are essential for evaluating the effectiveness of prevention strategies. Population-level assessments of serum 25(OH)D concentrations provide valuable data for guiding policy decisions and identifying emerging risk groups. However, limited laboratory capacity and resource constraints pose challenges to widespread surveillance in many African countries. In such settings, periodic national surveys and targeted studies may represent feasible alternatives (Cashman et al., 2016; Mogire et al., 2020).

From a policy perspective, addressing vitamin D deficiency requires multisectoral collaboration involving healthcare systems, nutrition policymakers, urban planners, and community stakeholders. National nutrition guidelines that incorporate vitamin D recommendations, combined with evidence-based fortification and supplementation policies, are essential for reducing the burden of deficiency. The reviewed evidence underscores that without coordinated public health action, vitamin D deficiency is likely to persist despite favorable environmental conditions (Mogire et al., 2020).

References

- Abdel-Mohsen, M. A., El-Braky, A. A.-A., Ghazal, A. A. E.-R., & Shamseya, M. M. (2018). Autophagy, apoptosis, vitamin D, and vitamin D receptor in hepatocellular carcinoma associated with hepatitis C virus. *Medicine*, 97(12), e0172.
- Adger, W. N. (2006). Vulnerability. *Global environmental change*, 16(3), 268-281.
- Ahmed, S., Goldberg, G. R., Raqib, R., Roy, S. K., Haque, S., Braithwaite, V. S., . . . Prentice, A. (2020). Aetiology of nutritional rickets in rural Bangladeshi children. *Bone*, 136, 115357.
- Arabi, A., El Rassi, R., & El-Hajj Fuleihan, G. (2010). Hypovitaminosis D in developing countries—prevalence, risk factors and outcomes. *Nature reviews endocrinology*, 6(10), 550-561.
- Autier, P., Boniol, M., Pizot, C., & Mullie, P. (2014). Vitamin D status and ill health: a systematic review. *The lancet Diabetes & endocrinology*, 2(1), 76-89.
- Barendregt, J. J., Doi, S. A., Lee, Y. Y., Norman, R. E., & Vos, T. (2013). Meta-analysis of prevalence. *J epidemiol community health*, 67(11), 974-978.
- Bouillon, R. (2017). Comparative analysis of nutritional guidelines for vitamin D. *Nature reviews endocrinology*, 13(8), 466-479.
- Bouillon, R., Marcocci, C., Carmeliet, G., Bikle, D., White, J. H., Dawson-Hughes, B., . . . Giustina, A. (2019). Skeletal and extraskeletal actions of vitamin D: current evidence and outstanding questions. *Endocrine reviews*, 40(4), 1109-1151.

- Boyle, V. T., Thorstensen, E. B., Mourath, D., Jones, M. B., McCowan, L. M., Kenny, L. C., & Baker, P. N. (2016). The relationship between 25-hydroxyvitamin D concentration in early pregnancy and pregnancy outcomes in a large, prospective cohort. *British Journal of Nutrition*, 116(8), 1409-1415.
- Calvo, M. S., Whiting, S. J., & Barton, C. N. (2004). Vitamin D fortification in the United States and Canada: current status and data needs. *The American journal of clinical nutrition*, 80(6), 1710S-1716S.
- Cashman, K. D., Dowling, K. G., Škrabáková, Z., Gonzalez-Gross, M., Valtueña, J., De Henauw, S., . . . Mølgaard, C. (2016). Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? *The American journal of clinical nutrition*, 103(4), 1033-1044.
- Craviari, T., Pettifor, J. M., Thacher, T. D., Meisner, C., Arnaud, J., Fischer, P. R., & Group, R. C. (2008). Rickets: an overview and future directions, with special reference to Bangladesh: a summary of the Rickets Convergence Group Meeting, Dhaka, 26–27 January 2006. *Journal of health, population, and nutrition*, 26(1), 112.
- Durazo-Arvizu, R. A., Camacho, P., Bovet, P., Forrester, T., Lambert, E. V., Plange-Rhule, J., . . . Dugas, L. R. (2014). 25-Hydroxyvitamin D in African-origin populations at varying latitudes challenges the construct of a physiologic norm. *The American journal of clinical nutrition*, 100(3), 908-914.
- Grant, W. B., Wimalawansa, S. J., Holick, M. F., Cannell, J. J., Pludowski, P., Lappe, J. M., . . . May, P. (2015). Emphasizing the health benefits of vitamin D for those with neurodevelopmental disorders and intellectual disabilities. *Nutrients*, 7(3), 1538-1564.
- Holick, M. (2007). Vitamin D deficiency New England Journal of Medicine. 357: 266–81 doi: 10.1056. *NEJMra070553*.
- Holick, M. (2007). Vitamin D N Engl. J. Med, 357(266281), 2.
- Holick, M. F. (2005). The vitamin D epidemic and its health consequences. *J Nutr*, 135(11), 2739s-2748s. doi: 10.1093/jn/135.11.2739S
- Holick, M. F. (2011). Vitamin D: a d-lightful solution for health. *Journal of investigative medicine*, 59(6), 872-880.
- Holick, M. F., Binkley, N. C., Bischoff-Ferrari, H. A., Gordon, C. M., Hanley, D. A., Heaney, R. P., . . . Weaver, C. M. (2011). Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D

- deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96(7), 1911-1930.
- Holick, M. F., & Chen, T. C. (2008). Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *The American journal of clinical nutrition*, 87(4), 1080S-1086S.
- Hollis, B. W. (2005). Circulating 25-hydroxyvitamin D levels indicative of vitamin D sufficiency: implications for establishing a new effective dietary intake recommendation for vitamin D. *The Journal of nutrition*, 135(2), 317-322.
- Islam, M. Z., Bhuiyan, N. H., Akhtaruzzaman, M., Allardt, C. L., & Fogelholm, M. (2022). Vitamin D deficiency in Bangladesh: A review of prevalence, causes and recommendations for mitigation. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 31(2), 167-180.
- Jago, R., Harrell, J. S., McMurray, R. G., Edelstein, S., El Ghormli, L., & Bassin, S. (2006). Prevalence of abnormal lipid and blood pressure values among an ethnically diverse population of eighth-grade adolescents and screening implications. *Pediatrics*, 117(6), 2065-2073. doi: 10.1542/peds.2005-1716
- Lenhardt, A. (2024). Ending extreme poverty in an increasingly urbanised world. *DEEP Thematic Paper*, 5.
- Lips, P., Cashman, K. D., Lamberg-Allardt, C., Bischoff-Ferrari, H. A., Obermayer-Pietsch, B., Bianchi, M. L., . . . Bouillon, R. (2019). Current vitamin D status in European and Middle East countries and strategies to prevent vitamin D deficiency: a position statement of the European Calcified Tissue Society. *European journal of endocrinology*, 180(4), P23-P54.
- Mahmood, S., Rahman, M., Biswas, S. K., Saqueeb, S. N., Zaman, S., Manirujjaman, M., . . . Ali, N. (2017). Vitamin D and parathyroid hormone status in female garment workers: a case - control study in Bangladesh. *BioMed Research International*, 2017(1), 4105375.
- Manios, Y., Moschonis, G., Hulshof, T., Bourhis, A.-S., Hull, G. L., Dowling, K. G., . . . Cashman, K. D. (2017). Prevalence of vitamin D deficiency and insufficiency among schoolchildren in Greece: the role of sex, degree of urbanisation and seasonality. *British Journal of Nutrition*, 118(7), 550-558.
- Martin, C. A., Gowda, U., & Renzaho, A. M. (2016). The prevalence of vitamin D deficiency among dark-skinned populations

- according to their stage of migration and region of birth: A meta-analysis. *Nutrition*, 32(1), 21-32.
- Mogire, R. M., Mutua, A., Kimita, W., Kamau, A., Bejon, P., Pettifor, J. M., . . . Atkinson, S. H. (2020). Prevalence of vitamin D deficiency in Africa: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Global Health*, 8(1), e134-e142.
- Munns, C. F., Shaw, N., Kiely, M., Specker, B. L., Thacher, T. D., Ozono, K., . . . Mäkitie, O. (2016). Global consensus recommendations on prevention and management of nutritional rickets. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 101(2), 394-415.
- Ochs, W. (2013). The status of glueballs. *Journal of Physics G: Nuclear and Particle Physics*, 40(4), 043001.
- Olimid, A. P., & Olimid, D. A. (2019). Societal challenges, population trends and human security: evidence from the public governance within the United Nations publications (2015-2019). *Revista de Stiinte Politice*(64), 53-64.
- Ovesen, L., Andersen, R., & Jakobsen, J. (2003). Geographical differences in vitamin D status, with particular reference to European countries. *Proc Nutr Soc*, 62(4), 813-821. doi: 10.1079/pns2003297
- Palacios, C., & Gonzalez, L. (2014). Is vitamin D deficiency a major global public health problem? *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 144, 138-145.
- Piskorz, D., Keller, L., Citta, L., Tissera, G., Mata, L., & Bongarzone, L. (2024). Metabolic biomarkers and cardiovascular risk stratification in hypertension. *Hipertensión y Riesgo Vascular*, 41(3), 162-169.
- Pludowski, P., Holick, M. F., Pilz, S., Wagner, C. L., Hollis, B. W., Grant, W. B., . . . Kienreich, K. (2013). Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality—a review of recent evidence. *Autoimmunity reviews*, 12(10), 976-989.
- Prentice, A., Schoenmakers, I., Jones, K. S., Jarjou, L. M., & Goldberg, G. R. (2009). Vitamin D deficiency and its health consequences in Africa. *Clinical reviews in bone and mineral metabolism*, 7(1), 94-106.
- Ross, A. C., Manson, J. E., Abrams, S. A., Aloia, J. F., Brannon, P. M., Clinton, S. K., . . . Jones, G. (2011). The 2011 report on dietary

- reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96(1), 53-58.
- Saraf, R., Morton, S. M., Camargo Jr, C. A., & Grant, C. C. (2016). Global summary of maternal and newborn vitamin D status—a systematic review. *Maternal & child nutrition*, 12(4), 647-668.
- Spiro, A., & Buttriss, J. (2014). Vitamin D: an overview of vitamin D status and intake in Europe. *Nutrition bulletin*, 39(4), 322-350.
- T KADAKIA, K., & Galea, S. (2023). Urbanization and the future of population health. *The Milbank Quarterly*, 101(Suppl 1), 153.
- Tylavsky, F. A., Cheng, S., Lyytikäinen, A., Viljakainen, H., & Lamberg-Allardt, C. (2006). Strategies to improve vitamin D status in northern European children: exploring the merits of vitamin D fortification and supplementation. *J Nutr*, 136(4), 1130-1134. doi: 10.1093/jn/136.4.1130
- Wahlqvist, M. L. (2013). Vitamin D status and food security in North-East Asia. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 22(1), 1-5.
- WHO, G. (2011). Global status report on noncommunicable diseases 2010.

BÖLÜM 8

İMMUNOANALİZLERDE İNTERFERANSLAR

Aysun EKİNCİ¹

Giriş

İmmünoanalizler güçlü niteliksel ve niceliksel analitik tekniklerdir. 1959'da bir immünolojik test yönteminin ilk tanımından bu yana, test tasarımlarında ve analitik özelliklerde ilerlemeler kaydedilmiş ve bunların klinik laboratuvarlarda yaygın olarak uygulanmasına kapı açılmıştır. Klinik endokrinoloji laboratuvar tıbbıyla yakından bağlantılıdır çünkü hormon ölçümü, endokrin bozukluklarının tanısı, tedavisi ve prognozu için önemlidir (Ghazal K, 2022).

Klinik kimyada interferans kavramı, numune bileşenlerinin etkisi nedeniyle analizi yapılan analit konsantrasyonunda doğru sonuçta önemli sapmaya neden olan etken olarak tanımlanmaktadır (Ward G, 2017).

Yıllar boyunca immünolojik testlerde çeşitli müdahaleler tespit edilmiştir; bazılarının artık günlük pratikte rastlanmasa da

¹ Doç.Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Orcid: 0000-0002-0547-4139

Çapraz reaksiyon, heterofil antikor (Ab) lar, biyotin ve anti-analit antikorlar hala sorunlara neden olmaktadır. İnterferans nedenleri içinde heterofil Ab sık görülenler arasındadır (Bolstad N, 2013).

Rekabetçi ve rekabetçi olmayan/sandviç veya iki bölgeli olmak üzere laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılan iki immünolojik test yöntemi vardır (Ghazal K, 2022).

Rekabetçi immünolojik testler

Rekabetçi immünolojik analizlerde, antijen (Ag) yani analiz, sınırlı miktarda Ab için sinyal etiketli Ag (izleyici) ile rekabet eder. Bir yıkama adımından sonra bağlı sinyal üretilir ve numunedeki analiz konsantrasyonu, üretilen sinyalle ters orantılıdır (Ghazal K, 2022).

Rekabetçi olmayan/sandviç veya "iki bölgeli" immünolojik testler

Rekabetçi olmayan immünolojik analizlerde, yakalama Ab'si katı bir faza sabitlenir ve ardından analiz (numunedeki) ve etiketli Ab (izleyici) eklenir. İki Ab, analiz üzerindeki farklı epitopları tanır. Yakalama ve etiketli Ab'ler monoklonal, poliklonal veya her ikisi birden olabilir. Bir yıkama adımından sonra izleyici sinyali üretilir ve numunedeki analiz konsantrasyonu, üretilen sinyalle doğrudan iliğkilendirilir (Ghazal K, 2022).

Sandviç imm noanalizleri daha büyük moleküller (rneėin, polipeptit hormonları, hipofiz hormonları, paratiroid hormonu (PTH), kalsitonin, tiroglobulin (Tg), insülin, C-peptit, insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), anti-mlleryen hormonu (AMH), inhibin için uygundur. Oysa rekabetçi immünolojik testler daha kk molekülleri tespit etmek için daha uygundur (rneėin, tiroid hormonları T3 ve T4 (total veya serbest), steroidler, 25 hidroksi D vitamini); çünkü bir Ab tarafından yalnızca bir antijenik bölge tanınacaktır (Darwish IA, 2006).

Hem rekabetçi hem de sandviç immünolojik testlerin avantajları ve dezavantajları vardır. Rekabetçi immünolojik testler küçük moleküller için zorunludur ancak analitin öncülleri veya metabolitleri veya ilaçlarla çapraz reaksiyonlara ve biyotin-streptavidin kompleksi immün kompleksi ayırmak için kullanıldığında endojen Ab'ler ve biyotinden kaynaklanan etkileşime karşı hassastır. Sandviç immünoanalizleri Ab reaktiflerinin fazla miktarda verilmesinden dolayı genellikle daha sağlamdır. Ayrıca daha yüksek özgüllük ve daha düşük bir miktar belirleme limiti sunar; ancak bu analizler, endojen Ab'ler, biyotin ve sandviç formatına özgü kanca (hook) etkisi nedeniyle bazı girişimlere açıktır (Ghazal K, 2022).

İnterferans Türleri

Heterofil Ab ve anti-hayvan Ab

Heterofil Ab'ler, insan numunelerinde bulunan ve farklı türlerden elde edilen analiz reaktifi Ab'lerle reaksiyona girebilen poliklonal Ab'lerdir. Çoğunlukla yanlış yüksek veya yanlış düşük sonuçlara yol açabilirler. İmmünolojik testlerde bu etkileşimin yaygınlığına ilişkin çalışmalarda %0.4 ile %0.5 arasında değişen değerler vermiştir (Bolstad N, 2013), (Ismail A. , Identifying and reducing potentially wrong immunoassay results even when plausible and "not-unreasonable", 2014).

Heterofil ve insan anti-hayvan Ab'lerinin tanımı [(HAAA: human anti-animal Ab) çoğunlukla insan anti-fare Ab (HAMA: human anti-mouse Ab)] kafa karıştırıcıdır, çünkü bazı yazarlar mekanizmadan bağımsız olarak herhangi bir endojen müdahale eden Ab'yi belirtmek için "heterofilik Ab" terimini kullanmışlardır. Heterofil Ab'ler tipik olarak insan kaynaklı, endojen ve zayıf derecede polispesifik Ab'lerdir; doğal olarak oluştukları ve birden fazla türden gelen Ab'lerle reaksiyona girebildikleri kabul edilmektedir. Buna karşılık, HAAA'lar monospesifik, yüksek

afiniteli Ab'lerdir ve hayvanlara veya hayvan ürünlerine maruz kaldıktan sonra, viral veya bakteriyel enfeksiyonlardan sonra, otoimmün klinik bağlamda veya tanımlanmış herhangi bir neden olmadan ortaya çıkabilmektedir. Ancak bunların girişim mekanizması heterofil antikorlarınkine benzer. Laboratuvar uygulamasında, "heterofil Ab" terimi tipik olarak endojen bir Ab'nin test Ab'lerine bağlandığından şüphelenildiğinde kullanılır (Bolstad N, 2013), (Favresse J, 2018). Diagnostik veya terapötik Ab'lere daha önce maruz kalma bilgisi önemlidir; "Heterofil" terimi teorik olarak yalnızca hayvan immünglobulin (Ig)'sine maruz kaldığına dair bir kanıt olmadığında kullanılmalıdır (Favresse J, 2018), (Kricka, 1999). Heterofil Ab'ler IgG, IgM veya IgA izotipinde olabilir. Çoğunlukla analiz Ab'lerinin Fc bölgesine bağlansalar da, bu müdahaleci Ab'lerin analiz Ab'lerinin diğer kısımlarına (idiyotop veya menteşe bölgesi gibi) bağlandığına dair raporlar vardır (Bergman D, 2019), (Boscato LM, 1988).

Ab girişim mekanizması test tasarımına bağlı olarak değişir. Sandviç immünolojik testlerde, bir heterofil Ab, yakalama ve etiketli Ab'ler arasında bir köprü oluşturabilir (iki Ab'yi çapraz bağlayarak), çoğu durumda yanlış pozitif girişime neden olabilir (Hattori N, 2016). Nadir durumlarda, heterofil bir antikor, test antikorlarından yalnızca birine bağlanıp bloke ederek Ag-Ab kompleksinin oluşumunu engelleyebilir ve sterik etkiler yoluyla analitin bağlanmasını önleyerek yanlış negatif girişime neden olabilir. (Kricka, 1999), (Giovanella L G. A., 2007). Her ne kadar bu etkileşim çoğunlukla sandviç immünolojik testlerle ilgili olsa da, rekabetçi immünolojik testlerde, girişime neden olan Ab, Ab'nin yakalanmasını bloke ederek (böylece test sinyalini azaltarak) yanlış yüksek sonuçlar veya yanlış düşük sonuçlar verebilir (Ramaeker D, 2008), (Saleem M, 2009). Bazen, heterofilik Ab etkileşimi aynı anda birden fazla hormon immünolojik testini etkileyebilir (Gulbahar O, 2015), (Garcia-Gonzalez E, 2015).

HAAA'lar, teorik olarak bir türe özgü olmaları ve daha yüksek aviditeye sahip olmaları nedeniyle heterofil Ab'lerden farklılık gösterir. Anti-hayvan Ab'leri (IgG, IgM, IgA sınıfı, anti-izotip ve anti-idiotip spesifikliği) insan anti-fare, anti-tavşan, anti-keçi, anti-koyun, anti-inek, anti-domuz, anti-sıçan ve at karşıtı Ab'ler ve karışık spesifikliğe sahip olanları içerir (Kricka, 1999). HAAA'lar geçici olabilir ve birkaç günden birkaç aya veya yıla kadar sürebilir (Oei AL, 2008). Bunlar, hayvan Ag'lerine maruz kalmanın iatrojenik ve iatrojenik olmayan nedenlerinden kaynaklanmaktadır. Maruziyet, hayvan yetiştirme tesisi çalışanları, laboratuvar hayvanı teknisyenleri ve kasaplar gibi çeşitli çalışanların yanı sıra evcil hayvanlar ve diyet kaynaklarından da oluşabilir (Klee, 2004). Fare monoklonal Ab (mAb)'leri tıbbi amaçlar için kullanıldığından, HAMA'lar en sık karşılaşılan müdahaleci HAAA türüdür. %1'den daha az olan HAAA etkileşiminin rapor edilen prevalansı düşük görünebilir, ancak immünolojik test sonuçlarına göre teşhis edilen hastalığın prevalansı göz önüne alındığında etki beklenenden daha büyük olabilir. İsmail (İsmail A. , 2007), %2 prevalansla (her yaştaki her iki cinsiyet için de) subklinik hipotiroidizm için %0.4'lük analitik girişim olasılığında, sonuçların yalnızca %83'ünün tanısız olarak doğru olduğunu, yani vakaların %17'sinin yanlış teşhis edileceğini göstermiştir.

Kanserlerin, otoimmün hastalıkların ve diğer klinik durumların tedavisine yönelik immünoterapilerde son zamanlarda devrim niteliğinde ilerlemeler kaydedilmiştir. Aralık 2019 itibarıyla, Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi kurumu 79 terapötik mAb'yi onayladı (Lu RM, 2020). Bu durum, terapötik bir antikörün antijen görevi görerek HAMA'ların oluşmasına yol açabileceği için antikörle ilgili girişim olasılığını artırır. İmmün kontrol noktası inhibitörleri, distiroidizm, hipofizit ve adrenal yetmezlik gibi gerçek endokrin bozukluklara neden olabilir ve bu

nedenle önemli bir sorun teşkil eder. Klinik tablo ile laboratuvar sonuçları arasındaki uyumsuzluk, özellikle tedavide kullanılan mAb tamamen insanlaştırılmamışsa, immünolojik testlerde olası girişim sorusunu gündeme getirir; HAAA'ların saptanma olasılığı teorik olarak bir fare mAb için %90, kimerik bir mAb için %40 ve insanlaştırılmış bir terapötik mAb için %10'dur (Lahlou N, 2018). 2010 yılında Koshida ve ark. (Koshida S, 2010) HAMA için bir test geliştirdi ve yatan ve ayakta tedavi gören hastalar arasında %11.7 pozitif numune kaydetti. HAMA'ların çok küçük bir yüzdesi hatalı sonuç verecektir. Bununla birlikte, klinik sonuçları olan potansiyel hataların sayısı, gerçekleştirilen immünolojik testlerin çok sayıda olması nedeniyle endişe vericidir (Emerson JF, 2013) . Örneğin, Jonklaas (Jonklaas, 2016), metastatik melanom için kontrol noktası inhibitörü fare mAb'leri ile tedaviye başladıktan sonra bir hastada serbest tiroksin (FT4) konsantrasyonunun yanlılıkla yükseldiği bir vakayı bildirmiştir.

Romatoid faktörler (RF'ler)

RF'ler, heterofil Ab'lerle aynı mekanizmalar yoluyla immünolojik testlere müdahale edebilir. RF'ler ağırlıklı olarak insan IgG'sinin Fc kısmı ile etkileşime giren IgM izotipindendir, ancak fare IgG'ye afiniteleri düşük gibi görünse de, aynı zamanda değişken afiniteye sahip farklı türlerinkiyle de reaksiyona girebilir (Holm BE, 2015). RF'ler romatoid artrit ve diğer otoimmün hastalıkları olan hastaların %70'inden fazlasında bulunur. RF konsantrasyonu iltihaplı enfeksiyon sırasında da artabilir. RF'ler şüpheli numunelerde ölçülebilir ve farklı tekniklerle ortadan kaldırılabilir. Astarita ve ark. (Astarita G, 2015), diferansiye tiroid kanseri ve romatoid artrit geçmişi olan bir kadında tiroglobulin (Tg) konsantrasyonu ölçümlerinde bir müdahale vakası bildirdi; burada, polietilen glikol (PEG) tedavisi yoluyla RF'ler ortadan kaldırıldıktan sonra saptanabilir Tg saptanamaz hale geldi. RF girişimi birden fazla parametreyi aynı anda etkileyebilir; Mongolu

ve ark. (Mongolu S, 2016), lüteinleştirici hormon (LH), folikül uyarıcı hormon (FSH), seks hormonu bağlayıcı globülin (SHBG), prolaktin, insan koryonik gonadotropin (HCG) ve tiroid uyarıcı hormon (TSH)'nin yüksek serum konsantrasyonlarına sahip romatoid artrit öyküsü olan 60 yaşında bir erkek hastanın durumunu bildirmiştir. Test müdahalesinden şüphelendiler ve RF'leri ortadan kaldırdıktan sonra normal hormon konsantrasyonlarını ortaya çıkaran başka testler yaptılar. Çoğu durumda, Ab müdahalesinden şüphelenildiğinde alternatif immünolojik test sonuçlarıyla karşılaştırma faydalıdır, çünkü girişim yapan Ab, belirli bir sınıf/alt sınıf veya izotipteki Ab'lerle en güçlü etkiye sahiptir ve farklı yöntemler ile çarpıcı derecede farklı sonuçlar verir (Cheng X, 2021). Doğrusallıktan yoksun seyreltme testleri, heterofil bloke edici tüplerin (HBT'ler) kullanımı ve protein A ön tedavisi de bir sonucun hatalı olduğunu göstermek için faydalıdır (Saleem M, 2009). Ancak hiçbir test tek başına kanıt olarak veya hatalı bir sonucu dışlamak için kullanılamaz (Ward G, 2017).

Bu tür girişimi azaltmak için üreticiler, reaktif Ig'ler ile aynı türden immün olmayan hayvan Ig'sinin dahil edilmesi, kümelenmiş Ig, kimerize veya insanlaştırılmış Ab'lerin kullanılması veya katı fazlarda Ig yerine iki F(ab) fragmanının kullanılması gibi bazı stratejiler geliştirmişlerdir (Ward G, 2017), (Bolstad N, 2013). Bununla birlikte, heterofilik Ab'ler doğası gereği oldukça heterojendir, konsantrasyonları hastalar arasında büyük ölçüde farklılık gösterir ve hiçbir bloke etme reaktifi/yöntemi bu tür etkileşimi önlemede tamamen başarılı olamaz.

Heterofilik Ab girişiminin sıklığı azalıyor olsa da, PTH, FSH, LH ve prolaktin konsantrasyonlarının hatalı bir şekilde yükselmesine ilişkin son raporlar, bu tür bir girişimin herhangi bir immünolojik testte hala meydana gelebileceğini göstermektedir (Laudes M, 2019), (Fruzzetti F, 2020), (Aliberti L, 2021).

Kanca efekti (Hook etkisi)

Bu fenomen, çok yüksek hormon konsantrasyonlarını ölçerken sandviç immün testlerinde ortaya çıkabilir; kanca etkisi özellikle fizyolojik ve patolojik konsantrasyonlar arasındaki varyasyonun aşırı olabileceği ilerleyici tümör patolojilerinde (örneğin prolaktinoma, tiroid karsinoması ve hidatiform mollerde) görülür (Haddad RA, 2019). İki bölgeli sandviç immün testlerinde, fazla Ag, yakalama ve sinyal antikorlarının ayrı ayrı Ag'ye bağlanmasıyla sandviç oluşumunu engelleyebilir ve sinyal antikorunu yıkanarak görünürde daha düşük bir konsantrasyona neden olabilir. Bu, ciddi durumlar için gecikmiş tanı ve tedaviye veya hatta ciddi sonuçları olan yanlış tanıya yol açabilir. Örneğin, makroprolaktinoma durumunda fark edilmeyen bir kanca etkisi, işlevsiz bir hipofiz tümörünün hatalı tanısına yol açabilir ve hastayı dopamin agonistleri reçete etmek yerine gereksiz ameliyata maruz bırakabilir (Frieze TW, 2002). Kanca etkisi yalnızca sandviç immün testlerini etkiler ve numune seyreltmesi fazla analit varlığını ortaya çıkaracaktır; seri seyreltmelerle, iki tutarlı ardışık seyreltme elde edilene kadar analitin konsantrasyonu artacaktır. Üreticiler, olası antikor doygunluğunu ve kanca etkisinin sıklığını en aza indirmek için genellikle fazla antikor kullanır veya gerekli numune hacmini azaltır.

Çapraz reaksiyon

Biyolojik örnekte Ag ile yapısal olarak ilişkili moleküllerin varlığı, çapraz reaksiyona ve Ab tarafından istenmeyen tanınmaya yol açarak özgüllük sorunlarına yol açabilir. Bu çapraz reaktanlar, analitin veya ilaçların metabolitleri veya öncüleri olabilir. Östrojen reseptörü pozitif meme kanserli hastalarda tedavi stratejisinin belirlenmesi için menopozal durumun doğru estradiol konsantrasyonu ölçümleriyle biyokimyasal olarak değerlendirilmesine ihtiyaç vardır. Fulvestrant, reseptörün

bozulmasını tetikleyen seçici bir östrojen reseptör antagonistidir. Meme kanseri hastalarında fulvestrant, yapısal benzerlikler nedeniyle estradiol immünolojik testlerinde belirgin çapraz reaksiyonlara yol açar (Owen LJ, 2019). Benzer şekilde, aromataz inhibitörü eksemestan, meme kanseri tedavisinde reçete edilen estradiolün yapısal bir analogudur. Eksemestan tedavisinde östradiolün biyokimyasal değerlendirmeleri, eksemestan metabolitleri ile çapraz reaksiyon nedeniyle çoğu östradiol immünolojik testinde yanlış pozitif sonuçlara neden olur (Mandic S, 2017).

Çapraz reaktanın varlığı test formatına bağlı olarak hatalı sonuçlara yol açabilir; rekabetçi immünolojik testler bu soruna en duyarlı olanlardır. Rekabetçi bir immünolojik testte, çapraz reaktan (estriol immünolojik testi hariç) genellikle yanlış bir artışa neden olur (Valdes R, 2002). Özellikle, doğrudan steroid immünolojik analizler (organik bir solvent ile numunenin ekstraksiyon aşaması olmaksızın) çapraz reaksiyondan etkilenebilir (örn. kortizol metabolitleri, kortizol immünolojik testlerinde sentetik glukokortikoidler) (Lopez AG, 2019).

Testosteron konsantrasyonu ölçümlerinde, ikinci nesil immünolojik testler dehidroepiandrosteron sülfat (DHEAS) çapraz reaksiyonunu önler (Groenesteg WM, 2012), (Benton SC, 2011). Bununla birlikte, diğer çapraz reaktanlara karşı koruma sağlamak amacıyla kadınlardan ve çocuklardan alınan numuneler için immünolojik testten önce bir ekstraksiyon adımı gereklidir (JW, 2010).

İki engelsiz spesifik epitop taşıyabilecek kadar büyük moleküller için, iki bölge sandviç analizleri, rekabetçi analizlere göre üstün özgüllük sergiler. Çift epitop tanıma nedeniyle sandviç immünolojik testinde girişim daha az sıklıkta görülür. Ancak bunun tezahürü, sandviç oluşumunda yer alan epitoplara bağlı olacaktır; hem yakalama hem de sinyal Ab'si yapısal olarak ilişkili bir çapraz

reaktanı bağlarsa, yanlış bir artış meydana gelecektir (örneğin, bazı GH analizleri için pegvisomant) (Paisley AN, 2007), (Manolopoulou J, 2012). Tersine, yapısal olarak ilgili çapraz reaktana yalnızca bir Ab (yakalama ya da sinyal Ab) bağlanırsa, yanlış bir azalma elde edilecektir çünkü sandviç kompleksi tamamlanamayacak ve ayırma adımından sonra Ab sinyali yıkanıp gidecektir (Paisley AN, 2007). Başka bir örnek, insülin farmakolojik analoglarının tanınmasının, nadir görülen gizli uygulama vakalarında faydalı olabileceği insülin immünolojik testleridir (Parfitt C, 2015).

Spesifikliğin eksikliği veya çok yüksek olması bazı durumlarda hatalı sonuçlara yol açabilir. Uygun özgüllüğü tanımlayacak olan klinik bağlama bağlı olarak geniş özgüllük büyük değer taşıyabilir; saptanacak epitopların seçimi çok önemlidir ve testin klinik kullanımına bağlı olacaktır. Reaktif üreticileri, özgüllük sorunlarını azaltmak ve immünolojik testlerini geliştirmek için sürekli olarak yeni Ab'ler seçmektedir (Ward G, 2017). Her durumda, sonucun uygun şekilde yorumlanması testin özgüllüğüne ilişkin bilgiye bağlıdır.

Anti-analit Ab'ler ve makro-analitler

Prolaktin

Bir Ab, antijenitesini korurken, yarı ömrünü ve fizyolojik rolünü değiştirerek, in vivo olarak analite bağlanabilir veya in vitro immünolojik teste doğrudan müdahale edebilir. Dolaşımdaki monomerik prolaktin, in vivo olarak IgG Ab'lere bağlanabilir, bu da artık "makroprolaktin"olarak adlandırılan, çok daha uzun yarı ömre sahip inaktif bir formu sonuçlanır ve immünolojik testlerde daha yüksek prolaktin konsantrasyonları sağlar. Bu, hekimin/jinekologun kadınların yaklaşık %4-10'unda gereksiz

incelemeler yapmasına yol açabilir (Overgaard M, 2017). Makroprolaktin kompleksi, prolaktin immünolojik testlerinde bir etkileşim kaynağıdır ve sıklıkla hiperprolaktineminin yanlış tanısıyla sonuçlanır. Klinik laboratuvarlar, hiperprolaktinemi ile başvuran tüm hastalarda makroprolaktinemiye dışlamak için onaylanmış bir tarama prosedürünü uygulamalıdır. PEG  keltme, çeşitli hormon immünolojik testlerinde (prolaktin, TSH ve FSH) etkili olan ve en az %60 oranında iyileşme sağlayan Ig içermeyen bir numunenin üretilmesine olanak tanır. PEG  keltmesi spesifik olmadığından, birlikte  keltme nedeniyle analitin bir kısmı kaybolur. PEG, proteinlerin             n  aşılmaya bağlı olarak solvent kullanılabilirliğini azaltır ve bunların  ekelmeye yol açar (Fahie-Wilson M, 2008). Ancak IgA'nın  ekelmesi yalnızca kısmidir; yanlış negatif PEG tarama testiyle birlikte IgA makroprolaktinemi vakası rapor edilmiştir (Fahie Wilson M, 2013). Makroprolaktin varlığı zamanla değişebileceğinden, makroprolaktinemiye saptamak için bir test tekrarlanmalıdır ve daha önce dışlanmış olsa bile makroprolaktin hala gelişebilir (Barth JH, 2018).

Makro-FSH, makro-LH ve makro-TSH

Daha az yaygın olmasına rağmen makroprolaktin gibi makro-FSH, makro-LH ve makro-TSH da tanımlanabilir. Patogenez tam olarak açık olmasa da, PEG tarama testi ile infertil kadınların %0.17'sinde makro-TSH tespit edildi (Webster R, 2010), (Ohba K, 2020). Ticari TSH immünolojik testleri makro-TSH'yi tanır ve bu da yanlış hipertirotropinemi tanısına yol açar (Hattori N, 2016), (Ohba K, 2020). PEG  keltme, seyreltme ve geri kazanım testleri bu durumun tespitinde faydalı olabilir (Loh TP, 2012). Bu bulgu aynı zamanda transplasental olarak anneden geçen anti-TSH Ab'ler nedeniyle  tiroid yenidoğanlarda da gözlenmiştir (Rix M, 2011), (Hallsall Dj, 2006).

Biyotin interferansı

Biyotin etkileşimi onlarca yıldır bilinmektedir, ancak yalnızca nadir kalıtsal metabolik bozukluklar bağlamında bilinmektedir (Henry JG, 1996). Ancak son dört yılda, streptavidin-biyotin teknolojisinin yaygın kullanımı ve fizyolojik üstü dozlarda biyotin daha sık terapötik veya terapötik olmayan kullanımı, hatalı hormon ve hormon dışı immünolojik test sonuçlarına ilişkin çok sayıda rapora yol açmıştır (Trambas, 2019), (Elston MS, 2016). Biyotin, immünkompleks ayrılmasını engelleyebilir, bu da streptavidin-biyotin ayrımını içeren teknikler kullanılarak rekabetçi veya sandviç immünolojik testlerde sırasıyla hormon konsantrasyonlarının yanlış şekilde yükselmesi veya azalması gibi ters hatalı sonuçlara yol açar (Trambas, 2019), (Elston MS, 2016), (Piketty ML P. M.-B., 2017). Zıt etkilere sahip bu çift yönlü davranış, endojen bir endokrin patolojik durumu taklit edebilir ve endokrinoloji testleri için özel bir zorluk teşkil eder: hipertiroidizmin biyokimyasal tanısıyla tutarlı görünen sonuçlar, "mükemmel bir fırtına"yı gösterir (FT4, serbest T3 (FT3), anti-TSH reseptör Ab'nin yanlış yüksek konsantrasyonları ve TSH konsantrasyonunun yanlış düşük olması) (Elston MS, 2016).

D vitamini zehirlenmesi, testosteron üreten tümörler, hiperandrojenizm, hiperkortizizm veya PTH baskılanması da yüksek biotin alımıyla ilgili "sahte haberler" olarak bildirilmiştir (Carter GD, 2020), (Stieglitz HM, 2018), (Koehler VF, 2018). Bunun aksine, birincil hipotiroidizm de dahil olmak üzere bazı gerçek endokrin bozuklukları, biyotin testlerdeki bozulması nedeniyle yüksek TSH konsantrasyonunu düşürdüğü için gözden kaçabilir (Henry JG, 1996). Şubat 2019'dan bu yana, Avrupa İlaç Ajansı, 150 µg'dan daha yüksek biyotin dozu içeren tüm biyotin takviyelerinin yanında hatalı laboratuvar sonuçları riskiyle ilgili bir uyarı mesajı bulunmasını zorunlu kılmıştır (genellikle önerilen günlük 30 µg alım miktarını içeren popüler vitamin kokteylleri,

herhangi bir testte in vitro laboratuvar bozulmasına neden olmaz) (Katzman BM, 2018).

İlerleyen multipl skleroz için çok yüksek dozlarda biyotin (300 mg) içeren yeni terapötik protokoller, son dört yılda biyotin problemini ön plana çıkarmıştır (Goldschmidt CH, 2020). En son çalışmalar bu çok yüksek dozların ilerleyici multipl skleroz için etkisizliğini, hatalı laboratuvar sonuçları ve buna bağlı olumsuz sonuçlar riskiyle birlikte gösterdiğinden, bu protokoller artık terk edilecektir (Motte J, 2020). Son olarak, doğuştan metabolizma hatalarının tespiti konusunda uzmanlaşmış hastane departmanları, biyotinidaz eksikliği, holokarboksilaz sentetaz eksikliği ve biyotin-tiamin bazal ganglion hastalığı gibi biyotin duyarlı çeşitli tıbbi durumlar için protokollerinde biyotin kullanmaktadır ve yüksek biyotin dozları reçete edilmektedir (Wolf, 2019), (Evans N, 2016). Biotin neonatal epileptik ensefalopati için ampirik olarak reçete edilebildiğinden, biyotinle ilişkili risk yenidoğan bakımıyla ilgilidir (Lefevre CR, 2020).

Biyotin çoğunlukla böbrekler yoluyla elimine edildiğinden en sorunlu durumlar, biyotin metabolizmasındaki doğuştan gelen hatalar, multipl skleroz ve böbrek yetmezliği için uygulanan yüksek dozlardır (Piketty ML P. D., 2017). Duyarlı immünolojik testler için bu tür hataların ana belirleyicileri, biyotin dozu, son alımdan bu yana geçen süre ve değiştirilmişse böbrek fonksiyonudur. Maksimum biyotin konsantrasyonu alımdan yaklaşık 1,5 saat sonra gözlenir ve biyotinin yarı ömrü ortalama 15 saattir (Grimsey P, 2017). Duyarlı yöntemler için biyotin ile ilişkili riski en aza indirmek amacıyla farklı stratejiler önerilmiştir (Gifford JL, 2019). Her laboratuvar, kullanılan yöntemlere ve özel hasta alımına (örneğin, doğuştan metabolizma bozuklukları) göre bu riski değerlendirmelidir (Trambas, 2019).

Bu gelişmeleri beklerken halkın bu konuda eğitilmesi ve hastaların bilinçlendirilmesi gerekmektedir. Laboratuvar testlerine

ihtiyaç duyan hastalara, herhangi bir takviye almaktan kaçınmaları ve herhangi bir kalıntı biyotini "temizlemek" için birkaç saat veya gün beklemleri bildirilmelidir. İhtiyaç duyulan arınma süresi, yapılan tahlile göre değişeceğinden, arınma süresi için tek bir öneri verilemez (Zhang Y, 2020).

Doğuştan metabolizma bozukluğu olan hastalarda biyotin uygulaması durdurulamaz ve acil durumlarda biyotin temizliği için saatlerce, günlerce beklemek mümkün değildir; bu nedenle, kullanılan yöntemlerin biyotin etkileşimine duyarlı olması durumunda laboratuvar tarafından bu vakalar için bir acil durum prosedürü oluşturulmalıdır (Avery, 2019).

Tüm laboratuvarların biyotin ölçümü yapma yeteneği yoktur, bu da fizyolojik üstü biyotin alımının belirlenmesini zorlaştırır. Seyreltme testleri ve nötralizasyon testleri, bir hastada bu sorundan şüphelenildiğinde yardımcı olabilir (Piketty ML P. D., 2017), (Lam L, 2017) (Trambas C, 2018).

Girişim şüphesinde çözüm önerileri

Laboratuvar uzmanları interferanstan şüphelendiğinde farklı yaklaşımlar mümkündür. Ölçümlerin tekrarlanması ve ardından tüm test sürecinin sorgulanması başlangıç adımıdır.

Bazı yöntemler HBT veya PEG ön tedavisinden sonra geçerli olmadığından, her laboratuvar her immünolojik test için girişim testi protokolünü doğrulamalıdır (Ellis MJ, 2005). İkinci bir Ab ayırma aşamasını içeren yöntemler, bir fare bileşeni içeren herhangi bir bloke edici ajanın kullanımını yasaklar (Choy KW, 2017). Yararlı bir yaklaşım, klinisyenlere testin olası bir tuzağı veya sınırlamasını hatırlatmak için belirli bir müdahaleye ilişkin bir uyarı eklemek olabilir. Mümkün olduğunda, hastanın terapötik dosyasında eksojen bir girişimin tanımlanması durumunda, arınma süresinden sonra elde edilen yeni bir numuneye ihtiyaç duyulacaktır. Bir analitin başka bir yöntemle ölçülmesi, kullanılan

metodolojinin farklı olması koşuluyla çok yararlı ve gereklidir; bu, örneğin yakındaki laboratuvarlarda alternatif bir yöntemin mevcut olduğu anlamına gelir. Steroid immün testleri için, tandem kütle spektrometrisine (LC-MS/MS) bağlı sıvı kromatografisi en uygun kontrol yöntemi olacaktır (Ghazal K, 2022).

Girişimden şüphelenildiğinde (veya kanca etkisi için) numunenin seri seyreltilmesi en basit yaklaşımdır. Bu, yönlendirici bir test olabilir ve uyarlanmış bir seyreltici kullanılmalıdır. Bazı immün testler, matris etkisi nedeniyle veya seyreltmeye "direnc gösterdikleri" için (örneğin, serbest tiroid hormonu testleri) numune seyreltmesini desteklemez (JD., 2013). Bununla birlikte, seyreltme testi sonuçlarını yorumlamak zor olabilir, çünkü heterofil antikorlara sahip bazı numuneler doğrusal bir yanıt verebilir (orijinal sonuçları yanlış bir şekilde doğrulayabilir) veya doğrusal olmayan bir yanıt verebilir (şüphelenilen girişimin yanlış doğrulanmasına neden olabilir) (Bolstad N, 2013), (İsmail, 2007). Hayvan serumu veya Ig (aynı türden) içeren bir seyreltme testi yararlı olabilir (Cole LA, 2004).

Hiçbir tek test, endojen bir antikorun girişimini belirleyemez veya dışlayamaz. Antikor girişiminin belirlenmesi, HBT'lerin (Scantibodies Laboratuvarı, Santee, CA, ABD), seyreltme testinin, RF emicilerinin, PEG çökeltmesinin ve protein A ve G ön adsorpsiyonunun veya hayvan serumu veya Ig'nin eklenmesinin kullanımını içerebilir. Üç basit testin (seyreltme testi, HBT ön işlemi ve PEG çökeltme) kullanılması, şüpheli örneklerin %90'ında girişimi belirleyebilir (İsmail A. , 2009).

Romatoid artrit veya RF varlığıyla ilişkili diğer otoimmün hastalıklar öyküsü bilinen hastalardan alınan örnekler, girişimin nedenini belirlemeye yardımcı olabilir. Bazı ticari testler HAMA pozitif örnekleri tespit edebilir. Biyotin girişimi yonteme özgüdür ve sonuçları farklı bir ayırma metodolojisinin sonuçlarıyla karşılaştırarak kolayca aşılabilir (Santhana Krishnan SG, 2006).

Heterofilik antikorlar serumda, plazmada veya tam kanda bulunur. Bu tür bir girişim idrarda bulunmaz; Bu nedenle, idrarda atılan moleküller için idrarla uyumsuz sonuçlar, bu girişimi tespit etmenin mükemmel bir yoludur (HCG, kortizol) (Cole LA, 2004). Yenidoğanlarda elde edilen sonuçların (örneğin, yüksek TSH tarama sonucu) annede gözlemlenenlerle karşılaştırılması yardımcı olabilir (Rix M, 2011). Heterofilik Ab girişiminden kaynaklanan yanlış yüksek kalsitonin sonucunu dışlamak için prokalsitoninin eş zamanlı ölçümleri yararlı olabilir (Giovanella L G. I., 2018).

Kaynakça

- Aliberti L, G. I. (2021). Hypeprolactinemia: still an insidious diagnosis. *Endocrine*, 928-931.
- Astarita G, G. S. (2015). False positive in the measurement of thyroglobulin induced by rheumatoid factor . *Clin Chim Acta*, 43-46.
- Avery, G. (2019). Biotin interference in immunoassay: a review for the laboratory scientist. *Ann Clin Biochem*, 424-430.
- Barth JH, L. C. (2018). Observational studies on macroprolactin in a routine clinical laboratory. *Clin Chem Lab Med*, 1259-1262.
- Benton SC, N. M. (2011). Measured dehydroepiandrosterone sulfate positively influences testosterone measurement in unextracted female serum: comparison of 2 immunoassays with testosterone measured by LC-MS. *Clin Chem*, 1074-1075.
- Bergman D, L. A.-H. (2019). Characterization of canine anti-mouse antibodies highlights that multiple strategies are needed to combat immunoassay interference. *Sci Rep*, 14521.
- Bolstad N, W. D. (2013). Heterophilic antibody interference in immunometric assays. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 647-661.
- Boscato LM, S. M. (1988). Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem*, 27-33.
- Carter GD, B. J.-A. (2020). Biotin supplementation causes erroneous elevations of results in some commercial serum 25-hydroxyvitamin D (25OHD) assays. *J Steroid Biochem Mol Biol* , 105639.

- Cheng X, G. X. (2021). Heterophilic antibody interference with TSH measurement on different immunoassay platforms. *Clin Chim Acta*, 63-65.
- Choy KW, T. J. (2017). Immunoassay interference complicating management of Cushing's disease: the onus is on the clinician and the laboratory. . *Ann Clin Biochem*, 183-184.
- Cole LA, K. S. (2004). Easy fix for clinical laboratories for the false-positive defect with the Abbott AxSym total β -hCG test. *Clin Biochem*, 344-349.
- Darwish IA. (2006). Immunoassay methods and their applications in pharmaceutical analysis: basic methodology and recent advances. *Int J Biomed Sci*, 217-235.
- Ellis MJ, L. J. (2005). Techniques for identifying heterophile anti-body interference are assay specific: study of seven analytes on two automated immunoassay analyzers. . *Clin Chem* , 639-641.
- Elston MS, S. S. (2016). Factitious Graves disease due to biotin immunoassay interference-A case and review of the literature. *J Clin Endocrinol Metab*, 3251-3255.
- Emerson JF, L. K. (2013). Endogenous antibody interferences in immunoassays. *Lab Med*, 44, 69-73.
- Evans N, y. J. (2016). Immunoassay interference secondary to therapeutic high-dose biotin: A paediatric case re-port. . *Eur Thyroid J*, 212-215.
- Fahie Wilson M, S. T. (2013). Determination of prolactin: the macroprolactin problem. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 725-742.

- Fahie-Wilson M, H. D. (2008). Polyethylene glycol precipitation: proceed with care. *Ann Clin Biochem*, 233-235.
- Favresse J, B. M. (2018). Interferences with thyroid function immunoassays: clinical implications and detection algorithm. *Endocr Rev*, 830-850.
- Frieze TW, M. D. (2002). "Hook effect" in prolactinomas: case report and review of literature. *Endocr Pract*, 296-303.
- Fruzetti F, P. G. (2020). Anti-goat antibodies as a rare cause of high gonadotropin levels during menopausal transition. *Gynecol Endocrinol* , 938-940.
- Garcia-Gonzalez E, A. M.-B. (2015). Serum sample containing endogenous antibodies interfering with multiple hormone immunoassays. Laboratory strategies to detect interference. *Pract Lab Med*, 1-10.
- Ghazal K, B. S. (2022). Hormone Immunoassay Interference: A 2021 Update. Review. *Ann Lab Med*, 3-23.
- Gifford JL, d. K. (2019). Strategies for mitigating risk posed by biotin interference on clinical immunoassays. *Clin Biochem*, 61-63.
- Giovanella L, G. A. (2007). Undetectable serum thyroglobulin due to negative interference of heterophile antibodies in relapsing thyroid carcinoma. *Clin Chem*, 1871-1872.
- Giovanella L, G. I. (2018). Measuring procalcitonin to overcome heterophilic-antibody-induced spurious hypercalcitoninemia. . *Clin Chem Lab Med*, e160-163.
- Goldschmidt CH, C. C. (2020). The rise and fall of high-dose biotin to treat progressive multiple sclerosis. *Neurotherapeutics*, 968-970.

- Grimsey P, F. N. (2017). Population pharmacokinetics of exogenous biotin and the relationship between biotin serum levels and in vitro immunoassay interference. *Int J Pharmacokinet*, 247-256.
- Groenestegte WM, B. H. (2012). Accuracy of first and second generation testosterone assays and improvement through sample extraction. *Clin Chem* , 1154-1156.
- Gulbahar O, K. D. (2015). A case with immunoassay interferences in the measurement of multiple hormones. *J Clin Endocrinol Metab*, 2147-2153.
- Haddad RA, G. D. (2019). Interpretation of common endocrine laboratory tests:technical pitfalls, their mechanisms and practical considerations. *Clin Diabetes Endocrinol*, 12.
- Halsall Dj, F.-W. M. (2006). Macro thyrotropin-IgG complex causes factitious increases in thyroid-stimulating hormone screening tests in a neonate and mother. *Clin Chem* , 1968-1969.
- Hattori N, I. T. (2016). Variability in the detection of macro TSH in different immunoassay systems. *Eur J Endocrinol*, 9-15.
- Henry JG, S. S. (1996). Interference by biotin therapy on measurement of TSH and FT4 by enzyme immunoassay on Boehringer Mannheim ES700 analyser. *Ann Clin Biochem*, 162-163.
- Holm BE, S. N. (2015). Species cross-reactivity of rheumatoid factors and implications for immunoassays. *Scand J Clin Lab Invest*, 51-63.
- İsmail, A. (2007). On detecting interference from endogenous antibodies in immunoassays by doubling dilutions test. *Clin Chem Lab Med*, 851-854.

- Ismail, A. (2007). On the diagnosis of subclinical hypothyroidism. *Br J Gen Pract*, 1000-1001.
- Ismail, A. (2007). On the diagnosis of subclinical hypothyroidism. *Br J Gen Pract* , 1000-1001.
- Ismail, A. (2009). Interference from endogenous antibodies in automated immunoassays: what laboratorians need to know. *J Clin Pathol*, 673-678.
- Ismail, A. (2014). Identifying and reducing potentially wrong immunoassay results even when plausible and "not-unreasonable". *Adv Clin Chem*, 241-294.
- JD., F. (2013). Principles and pitfalls of free hormone measurements. . *Best Pract Res ClinEndocrinol Metab*, 631-645.
- Jonklaas, J. (2016). TSH-free thyroxine discordance in an athyreotic patient during ipiluminab and nivoluminab therapy. *AACE Clin Case Rep*, 296-301.
- JW, H. (2010). Steroid assays in paediatric endocrinology. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* , 1-16.
- Katzman BM, L. A. (2018). Prevalence of biotin supplement usage in outpatients and plasma biotin concentrations in patients presenting to the emergency department. . *Clin Biochem*, 11-16.
- Klee, G. (2004). Interferences in hormone immunoassays. *Clin Lab Med*, 1-18.
- Koehler VF, M. U. (2018). Fake news? Biotin interference in thyroid immunoassays. . *Clin Chim Acta* , 320-322.

- Koshida S, A. K. (2010). Prevalence of human anti-mouse antibodies (HAMAs) in routine examinations. *Clin Chim Acta*, 391-394.
- Kricka, L. (1999). Human anti-animal antibody interferences in immunological assays. *Clin Chem*, 942-956.
- Lahlou N, R. V. (2018). Expert opinions on endocrine toxicity induced by new anticancer therapies: precautions to be taken in performing and interpreting hormonal assays under immunotherapy. *Ann Endocrinol* , 550-554.
- Lam L, K. C. (2017). A simple method to detect biotin interference on immunoassays. . *Clin Chem Lab Med*, 104-106.
- Laudes M, F. J. (2019). PTH immunoassay interference due to human anti-mouse antibodies in a subject with obesity with normal parathyroid function. *J Clin Endocrinol Metab*, 5840-5842.
- Lefevre CR, P. L. (2020). Im-munoassay disruption by high-dose biotin therapy: fair warning for neonatal care physicians. . *Pediatr Neurol*, 8-9.
- Loh TP, K. S. (2012). Macro-thyrotropin: a case report and review of literature. *J Clin Endocrinol Metab*, 1823-1828.
- Lopez AG, F. F. (2019). Pharmacological and analytical interference in hormone assays for diagnosis of adrenal incidentaloma. *Ann Endocrinol*, 250-258.
- Lu RM, H. Y. (2020). Development of therapeutic antibodies for the treatment of diseases. *J Biomed Sci*, 1.
- Mandic S, K. J. (2017). Falsely elevated serum oestradiol due to exemestane therapy. *Ann Clin Biochem*, 402-405.

- Manolopoulou J, A. Y. (2012). Automated 22-kD growth hormone-specific assay without interference from Pegvisomant. *Clin Chem* , 1446-1456.
- Mongolu S, A. A. (2016). Heterophilic antibody interference affecting multiple hormone assays: is it due to rheumatoid factor? *Scand J Clin Lab Invest*, 240-242.
- Motte J, G. R. (2020). High-dose biotin in multiple sclerosis: the end of the road. . *Lancet Neurol* , 965-966.
- Oei AL, S. F. (2008). Transient human anti-mouse antibodies (HAMA) interference in CA 125 measurements during monitoring of ovarian cancer patients treated with murine monoclonal antibody. *Gynecol Oncol*, 199-202.
- Ohba K, M. M. (2020). Abnormal thyroid hormone response to TRH in a case of macro-TSH and cut-off value for screening cases of inappropriate TSH elevation. *Endocr J*, 125-130.
- Overgaard M, P. S. (2017). Serum prolactin revisited: parametric reference intervals and cross platform evaluation of polyethylene glycol precipitation-based methods for discrimination between hyperprolactinemia and macroprolactinemia. *Clin Chem Lab Med*, 1744-1453.
- Owen LJ, M. P. (2019). Oestradiol measurement during fulvestrant treatment for breast cancer. *Br J Cancer* , 404-406.
- Paisley AN, H. K. (2007). Pegvisomant interference in GH assays results in underestimation of GH levels. *Eur J Endocrinol*, 315-319.
- Parfitt C, C. D. (2015). Commercial insulin immunoassays fail to detect commonly prescribed insulin analogues. *Clin Biochem*, 1354-1357.

- Piketty ML, P. D. (2017). Immunoassay disruption by high-dose biotin therapy: fair warning for neonatal care physicians. . *Clin Chem Lab Med*, 817-825.
- Piketty ML, P. M.-B. (2017). False biochemical diagnosis of hyperthyroidism in streptavidin-biotin-based immunoassays: the problem of biotin intake and related interferences. *Clin Chem Lab Med*, 780-788.
- Ramaeker D, B. J. (2008). When is elevated testosterone not testosterone? When it is an immunoassay interfering antibody. *Fertil Steril*, 886-888.
- Rix M, L. P. (2011). Elevated thyroid-stimulating hormone level in a euthyroid neonate caused by macro thyrotropin-IgG complex. *Acta Paediatr*, 135-137.
- Saleem M, L. J. (2009). A patient with pseudo-Addison's disease and falsely elevated thyroxine due to interference in serum cortisol and free thyroxine immunoassays by two different mechanisms. *Ann Clin Biochem*, 172-175.
- Santhana Krishnan SG, P. R. (2006). Falsely raised TSH levels due to human anti-mouse antibody interfering with thyrotropin assay. *Postgrad Med J*, e27.
- Sciacovelli L, P. M. (2009). The IFCC Working Group on laboratory errors and patient safety. *Clinica Chimica Acta*, 79-85.
- Stieglitz HM, K.-S. N. (2018). Suspected testosterone-producing tumor in a patient taking biotin supplements. *J Endocr Soc*, 563-569.
- Trambas C, L. Z. (2018). Depletion of biotin using streptavidin-coated microparticles: a validated solution to the problem of

- biotin interference in streptavidin-biotin immunoassays. .
Ann Clin Biochem, 216-226.
- Trambas, C. (2019). Biotin interference in clinical laboratory tests: sporadic problem or a serious clinical issue? S. J. Dasputa A içinde, *Accurate results in the clinical laboratory* (s. 83-97). Amsterdam: Elsevier.
- Valdes R, J. S. (2002). Unexpected suppression of immunoassay results by cross-reactivity: now a demonstrated cause for concern. *Clin Chem*, 405-406.
- Ward G, S. A. (2017). The investigation of interferences in immunoassay. *Clin Biochem*, 1306-1311.
- Webster R, F.-W. M. (2010). Immunoglobulin interference in serum follicle-stimulating hormone assays: autoimmune and heterophilic antibody interference. *Ann Clin Biochem*, 386-389.
- Wolf, B. (2019). High doses of biotin can interfere with immunoassays that use biotin-strept(avidin) technologies: implications for individuals with biotin-responsive inherited metabolic disorders. *Mol Genet Metab*, 988-997.
- Zhang Y, W. R. (2020). Assessment of biotin interference in thyroid function tests. *Medicine* , 19232.

BÖLÜM 9

HEMOGLOBIN AS AN ALLOSTERIC OXYGEN CARRIER: STRUCTURAL DYNAMICS, ENERGETIC COOPERATIVITY, AND CLINICAL IMPLICATIONS

ERGİN TAŞKIN¹

Introduction

Hemoglobin (Hb) is a molecule that consists of one part heme and one part globin. It was once thought that oxygen transport is simply a binding event with the heme group of hemoglobin, but it is, in fact, a very complex process involving dynamic structural and functional changes of hemoglobin influenced by many environmental factors such as pH, CO₂ and 2,3-BPG (Kosmachevskaya & Topunov, 2018).

Hb consists of two alpha and two beta chains. The iron (Fe²⁺) ion in each heme group of the chain binds the oxygen. The more oxygen binds, the more hemoglobin goes from the low-affinity T (tense) state to the high-affinity R (relaxed) state; this change in structure enables cooperative binding. The affinity of hemoglobin

¹Assist Prof.Dr, Ağrı İbrahim Çeçen University, Faculty of Medicine, Medical Biochemistry, Orcid: 0000-0002-1883-6055

for oxygen is regulated by the allosteric factors such as 2,3-bisphosphoglycerate (2,3-BPG), pH (Bohr effect), CO₂, and chloride ions. 2,3-BPG and low pH promote the T state thereby increasing the oxygen release, whereas high pH and some ligands promote the R state thereby making it easier for the oxygen to bind. Some hemoglobin variants will shift this balance causing the diseases. Also, some drugs can use these allosteric properties of hemoglobin to modulate the oxygen carrying capacity for therapeutic purposes. Recent studies have provided a lot of data, presenting clues to the marvelous molecular mechanisms behind the physiological functions of Hb. Hemoglobin is a multi-functional molecule that has a role in different functions, such as, metabolic reprogramming, pH regulation, and maintenance of redox balance. This section will cover hemoglobin structure, oxygen binding curve, and the main physiological and pathological factors influencing this process.

Structure of Hemoglobin

Hemoglobin, primordial protein that enables human body to breathe, has been completely and accurately defined in terms of structure. It is the tetrameric protein made up of four subunits, two of which are alpha (α) and the others beta (β) chains. Each of the four subunits resides in a typical “globin” fold of eight alpha helices (A-H). At the center of each globin chain, there is a heme group. The heme contains an iron (Fe²⁺) ion at its center which plays the role of binding to the oxygen (Salvatore & et al., 2025). The iron atom in hemoglobin is directly coordinated with the amino acid termed as HisF8, which is also known as “proximal histidine”; after doing the 4 bonds with the pyrrole rings he makes 1 more bond with this. The oxygen molecule, on the other hand, is stabilized by “distal histidine” (HisE7). Thus, these two histidine residues lay the foundation of hemoglobin’s oxygen binding capacity. Moreover, other amino acids like ValE11 are also involved in the oxygen's

entrance and binding geometry. This very delicate arrangement around heme is what gives hemoglobin its proficiency in oxygen transport. The role of hemoglobin is not limited to this chemical binding; it also involves the conformational changes of the protein. During the attachment and release of oxygen, hemoglobin undergoes a transition between two main structural states: the “Tense” (T) form with low oxygen affinity and the “Relaxed” (R) form with high oxygen affinity. The transformation between these two states is regulated by physiological factors such as pH, temperature, and 2,3-bisphosphoglycerate (2,3-BPG). This dynamic change gives hemoglobin the flexibility to release oxygen in the tissues and rebind it in the lungs (Salvatore & et al., 2025; Seneo & et al., 2024). A ChemBioChem article published in 2025, the new subunit “ μ -globin” having a crystal-like structure that is similar to the classical α and β chains and still preserving the typical globin structure. Moreover, it has been stated that the oxidation of Met62 in the region can lead to the formation of methionine sulfoxide (Met-SO) and this may have an effect on the redox properties of the hemoglobin. In other words, hemoglobin does not only transport oxygen but also gets involved in biochemical reactions under oxidative stress conditions. All these studies have enabled to analyze and map the regions of the structure that are functionally the most sensitive through all possible amino acid changes of hemoglobin. It is particularly stressed how critical the conservation of the neighboring amino acids (HisE7, HisF8, ValE11) is for the function of hemoglobin. In addition, the disruption of the intersubunit interface regions that hold the tetrameric structure together may have a serious impact on the oxygen affinity or protein stability (Salvatore & et al., 2025; Seneo & et al., 2024). In another study, interpretations have been made regarding the “HID2” domain of Shr protein binding to both the α and β chains of hemoglobin, occupying the front surface of the heme group, that is, the bacterium using this area to draw iron

from the hemoglobin. No significant change in the hemoglobin structure has been observed during this interaction. This shows how structurally stable hemoglobin is and that it recognizes outside molecules through a “lock-key” tüpe interaction mechanism (Seneo & et al., 2024).

When these studies are evaluated together, it can be seen that hemoglobin is not only a molecule that carries oxygen, but also a biomachine with extraordinary structural stability, sensitivity to environmental conditions, and selective interaction with other proteins. Structurally, each globin chain has a heme group in its center, and the histidine-iron coordination that is formed around this heme makes it possible for hemoglobin to perform its indispensable function for life (Salvatore & et al., 2025; Seneo & et al., 2024; Han & et al., 2025).

Heme Group

Hem group forms a complex and highly organized structure that is at the center of the oxygen transport ability of hemoglobin. It is composed of the iron (Fe^{2+}) ion placed in a protoporphyrin IX ring. This iron ion is the one that gives hemoglobin the property of reversible binding to oxygen. The iron atom forms 6 bonds in +2 oxidation state. Thus, while forming 4 bonds with the porphyrin ring, it directly coordinates with the proximal histidine (HisF8) of the hemoglobin polypeptide chain and oxygen is stabilized by the distal histidine (HisE7) on the opposite side. So, this coordination geometry gives hemoglobin the capability of high efficiency in both the oxygen binding and the releasing processes. The chemical arrangement of the heme group is an absolute necessity for hemoglobin carrying out the function of an oxygen carrier (Perumcheril, 2017). The biological significance of the heme group is not only limited to oxygen binding. A study conducted in 2020 revealed that the interactions of the heme region of hemoglobin with

environmental molecules have a direct effect on the protein stability. In particular, during the experiments with Gemini-type surfactants, it was observed that these amphiphilic compounds weakened the folding of the protein by disrupting the hydrophobic interactions around the heme. This situation has shown that the heme group is not only involved in the transport of oxygen but also in the protection of the protein structure that has become central to the roles of hemoglobin (Tandon & et al., 2020). The heme group is also a center involved in redox (reduction-oxidation) cycles. The transition of the iron ion between Fe^{2+} and Fe^{3+} forms enables the coordination of the hemoglobin's chemical stability during oxygen transport. Nevertheless, the Fe^{3+} form (methemoglobin) cannot bind to oxygen, thus the reduced form of hemoglobin must be maintained biologically. It has been demonstrated in studies that heme biosynthesis starts in mitochondria, finishes in cytosol, and the alteration of this process is linked with diseases like porphyria (Perumcheril, 217). Changes in the chemical environment around heme directly influence the oxygen binding behavior of hemoglobin. This situation was for the first time defined as the Bohr effect: the decrease in the pH of the environment increases the protonation around heme, thus reducing the oxygen affinity. This chemical relationship was hinted at the mid-20th century studies, by the shift of the ionization constants of acidic groups in the heme. In particular, a new acidic group has been defined in the case of ferrihemoglobin (methemoglobin), and the sensitivity of this group to the surrounding ionic conditions has played a crucial role in elucidating the mechanism of hemoglobin's oxygen release (Coryell & Pauling, 1940).

Currently, these findings are being confirmed by modern spectroscopic and computational biochemistry methods. The placement of heme and the interactions of surrounding amino acids have been proven to be the main governing factors of the entire

structural stability of hemoglobin. This means that the heme group is not only an "auxiliary" for hemoglobin but also the chemical center of the whole functional capacity. The tiny yet complex structure of hemoglobin performs the oxygen transport that is essential for life through the dynamic oxidation-reduction properties of the iron ion. The sensitivity to environmental interactions determines the biochemical balance of hemoglobin, while the structural stability has been one of the main reasons for the evolutionary success of this protein over billions of years.

Oxygen Binding Curve

Hemoglobin's oxygen binding curve is one of the leading biophysical parameters which define the blood's oxygen carrying ability and the tissues' oxygen releasing. The curve illustrates the relationship between the partial pressure of oxygen (pO_2) and the degree of hemoglobin's oxygen saturation. The typical S (sigmoid) shape of the curve indicates that hemoglobin is binding the oxygen molecules in a cooperative manner, meaning that the binding of one oxygen molecule is increasing the affinity of the other binding sites. This cooperative behavior is linked to the transition between the T (Tense, low-affinity) and R (Relaxed, high-affinity) conformations of hemoglobin. A 2023 published work has, for the first time, come up with a mathematical model that is entirely based on physical principles and has it to explain the shape of this curve. The model has been able to reconstitute all the characteristic features of the curve by employing only four fundamental binding energies to describe the interaction of hemoglobin with oxygen. The research has indicated that the cooperative nature of oxygen binding is due to the small differences in these binding energies. These findings have demonstrated that the oxygen-hemoglobin interaction is a process that can be modeled thermodynamically as well as structurally (Standnes, 2023).

Another study has also shown how the drug Voxelotor changed the oxygen binding properties of hemoglobin in sickle cell anemia. Voxelotor was found to exert its action by binding to the R form of hemoglobin and shifting the curve to the left, thus increasing oxygen affinity. This, in turn, decreases the tendency of the tissues to take up the oxygen, thus preventing cell deformation. The Monod-Wyman-Changeux (MWC) allosteric model used in the study has quantitatively explained the conformational effects of drug binding on hemoglobin and has brought a new clinical dimension to classical oxygen curve theory (Harper & et al., 2021). The third major development in this area was the publication in 2019 of a study that examined not only how classical oxygen binding curves behave under equilibrium conditions but also under the transient conditions of real tissues. The researchers have shown that hemoglobin's cooperativity is actually composed of two different components. These findings have revealed that the oxygen exchange of hemoglobin has a more complex dynamics in real time than classical models (Scriama & Fugetto, 2019). When the recent studies are taken together, it is understood that the oxygen binding curve of hemoglobin is no longer just a physiological notion, rather it is a multi-layered biophysical phenomenon composed of energetic, structural, and clinical factors. The physical modeling study in 2023 has strengthened the mathematical foundation of the curve while the allosteric model study in 2021 has shown how the curve can be directed by drugs. The non-equilibrium research in 2019 has redefined the oxygen exchange of hemoglobin in real biological conditions.

As a result, the current literature is redefining the hemoglobin oxygen binding curve as a model of a dynamic system that is at the center of cellular energy balance, drug interactions and physiological adaptations, rather than being just a curve explaining the oxygen transport process.

The Cause of the Sigmoidal Curve

Hemoglobin's oxygen binding curve typically shows a sigmoid (S-shaped) structure. The behavior of this curve is due to hemoglobin's cooperative binding with oxygen. That is, when a molecule of oxygen attaches to hemoglobin, this event enhances the oxygen affinity of the other binding sites of hemoglobin. This character seems to be the result of the tetrameric structure of hemoglobin consisting of four subunits and the interactions between these subunits. A study published in 2023 has provided an explanation for this sigmoidal curve based entirely on thermodynamic principles. The researchers concluded that the small differences in binding energy of the four oxygens had a gradual increase in the whole curve as a side effect. These differences cause the initial binding of oxygen to textually the subsequent ones becoming of less cost in terms of energy. According to the study, these energy differences are the main physical reason for the sigmoidal shape, and this situation can even be reproduced mathematically without making an assumption of structural change. Thus, the cooperativity of hemoglobin has been defined as a consequence of the reaction enthalpy differences (Standnes, 2023). This finding is supportive of the concept of conformational change postulated by the classical Monod-Wyman-Changeux (MWC) model. However, according to Standnes' findings, it is not necessary for hemoglobin to undergo a structural change to explain the sigmoidal shape of the curve; the differences in binding energies alone can give rise to such behavior. On the other hand, a study carried out in 2022 showed that hemoglobin's sigmoid binding curve was also applicable under non-equilibrium conditions. The study concluded that the cooperativity of hemoglobin consists of two components:

1. Sequential cooperativity is caused by the successive binding of oxygen and accounts for about 70% of the total effect.

2. Conformational cooperativity is due to the transition of hemoglobin between the T (tense) and R (relaxed) forms and is around 30%.

These findings indicate that the sigmoid curve is the product of the combined effects of both the order of binding and the conformational changes (Scrima & Fugetto, 2019).

Thus, the sigmoid oxygen-binding curve of hemoglobin is the result of two major factors: First, the effect of sequential binding, resulting from the gradual increase in the four oxygen binding energies; second, the positive cooperativity, provided by the transition ($T \leftrightarrow R$) of the conformational changes that occur upon oxygen binding. These two processes enable hemoglobin to finely tune oxygen intake and release under physiological conditions.

2.3 Bisphosphoglycerate (2.3 BPG)

2,3-Bisphosphoglycerate (2,3-BPG) is one of the most important allosteric effectors that regulate the oxygen binding capacity of hemoglobin. This molecule, which is the by-product of the glycolysis pathway in erythrocytes, gets attached to the central cavity between the β -chains of hemoglobin and thus alters the conformation of the protein. As a result, the oxygen affinity of hemoglobin decreases, that is to say, hemoglobin releases the oxygen more easily. Therefore, 2,3-BPG takes the critical physiological regulatory role of enabling the efficient movement of oxygen to tissues. A study published in 2025 has examined how the levels of 2,3-BPG change under high altitude conditions. In the study, healthy individuals who were exposed to a hypobaric hypoxia environment equivalent to 3,500 meters were found to have a significant increase in the erythrocyte levels of 2,3-BPG and ATP after 96 hours. This increase has shifted the oxygenation curve of hemoglobin to the right thus, reducing the affinity for oxygen, and creating a physiological adaptation mechanism to hypoxia. The researchers have shown that

the rise in 2,3-BPG is accelerating the adaptation of the body to low oxygen pressure by facilitating oxygen release to the tissues (Woyke & Oberacher, 2025). Another important study conducted in 2017 examined plant compounds that could mimic the natural effect of 2,3-BPG. Phthalate derivatives obtained from the *Angelica sinensis* plant, when used in combination with 2,3-BPG, stabilized the T (tense) form of hemoglobin, thereby reducing oxygen affinity. The study demonstrated that these phthalates are novel allosteric modulators that enhance the effect of 2,3-BPG. Molecular modeling analysis has shown that these compounds are connecting to the α_1/α_2 interface of the hemoglobin and reinforcing salt bridges thus facilitating the oxygen release (Chen & Yu, 2017). Another recent study addressing the physiological importance of 2,3-BPG at the genetic level has studied the impact of the mutations in bisphosphoglycerate mutase (BPGM) enzyme. The research released in 2022 has revealed that the heterozygous variants in the BPGM gene reduce the synthesis of 2,3-BPG and the consequent increase of hemoglobin's oxygen affinity. It has been found that these individuals develop congenital erythrocytosis due to the decreased release of oxygen to the tissues. These findings strongly suggest that 2,3-BPG is not only a metabolic by-product but also a critical genetic regulator of oxygen transport in the body (van Dijk & et al., 2023).

All these studies clearly show that 2,3-BPG is one of the major factors in determining the position of the hemoglobin oxygen binding curve. The increase in the level of this molecule shifts the curve to the right which in turn makes it easier for the oxygen to be released to the tissues. Conversely, a deficiency of 2,3-BPG results in the curve shifting to the left and hemoglobin keeping oxygen more tightly. Therefore 2,3-BPG acts as a vital biochemical key controlling the structural equilibrium of hemoglobin, oxygen distribution and physiological adaptation mechanisms.

Mechanism of Action

Glycolysis results in the formation of 2,3-BPG as a byproduct and this binds to hemoglobin making it easier for the oxygen to be released and thus it also moves the oxygen binding curve to the right. In this way, 2,3-BPG binds with hemoglobin, which leads to the change of its shape, the stabilization of the T-form and the facilitation of the oxygen release to the tissues. This mechanism is a major factor in the body's adaptation to low oxygen levels, in the influence of blood pH (together with the Bohr effect), and in the equilibrium of oxygen transport.

Clinical and Physiological Significance

Normally pituitary conditions can fine-tune the bodies as per with oxygen needs in respect of placement of the oxygen-binding curve of the hemoglobin controlled by 2,3-BPG. High levels of 2,3-BPG cause a rightward shift of the curve which leads to a decrease in hemoglobin's oxygen affinity and an increase in the release of oxygen to the tissues. In contrast, low levels of 2,3-BPG move the curve to the left, resulting in a higher oxygen affinity and thus, making it more difficult for oxygen to be released to the tissues (Standnes, 2023). This mechanism serves a critical role, particularly in hypoxia, high altitude, anemia and chronic lung diseases. In the case of hypoxia, the amount of 2,3-BPG produced in red blood cells increases rapidly (Woyke & Obaracher, 2025). Moreover, levels of 2,3-BPG are related to the Bohr effect: the factors like lowering of blood pH or rising CO₂ levels not only trigger the formation of 2,3-BPG, but also make hemoglobin freer to part with oxygen. Hence, this alteration in body mechanism guarantees that oxygen is used effectively in, say, muscle tissues, during physical activity.

Deficiency or excess of 2,3-BPG may lead to deleterious effects clinically. Mutations in the BPGM gene cause 2,3-BPG deficiency, which results in the hemoglobin's incapacity to condense

in the T form. Here, the hemoglobin's affinity for oxygen rises to an abnormal level, the oxygen is not delivered to the tissues, and therefore, blood cell formation gets stimulated. This scenario is termed as congenital erythrocytosis. A genetic investigation that came out in 2022 pointed out that the low levels of 2,3-BPG along with the high concentrations of hemoglobin in people with BPGM mutations account for this clinical manifestation (van Dijk & et al., 2023). Conversely, the pharmacological enhancement of 2,3-BPG is likely to be a treatment for any condition where the transport of oxygen is reduced (e.g., shock, heart failure, or anemia) (Chen & Yu, 2017). In medical practice, the diminished levels of 2,3-BPG are a critical issue in blood transfusions. The gradual decline of 2,3-BPG in erythrocytes that are stored results in the inability of the transfused blood to deliver oxygen to the tissues efficiently. Consequently, blood preservation techniques or 2,3-BPG resynthesis have been the mainstay of modern blood banking.

Clinical Connections

Anemia

Anemia is a medical issue that manifests through a drop in the volume of hemoglobin in the blood and, thus, the oxygen supply to the tissues is also affected directly. In response to the deficiency of oxygen transported, the human organism turns on adaptive mechanisms; one of the most significant ones is the rise in 2,3-Bisphosphoglycerate (2,3-BPG) concentrations in erythrocytes. 2,3-BPG does this by attaching itself to the interstitial area of the β -chains of hemoglobin. This interaction not only stabilizes the T (tense) state but also leads to easier dissociation of oxygen from hemoglobin, thus constituting a compensatory response to the low oxygen state in the tissues. That is, in the case of anemia, there is a rise in 2,3-BPG levels, the oxygen binding curve is advanced to the right, and the amount of oxygen delivered to the tissues is increased

(Charache & Grisolia, 1970). This fact is especially clear in sickle cell anemia and hemolytic anemias. In patients with sickle cell anemia, the levels of 2,3-BPG in red blood cells have been found to be above the normal range. The effect of this increase is twofold: it lowers oxygen affinity and at the same time it makes more oxygen available to tissues through hemoglobin; however, it also tightens the grip of deoxygenated hemoglobin on polymerization, therefore, it plays a role in the disease's pathophysiology (Muhammad & et al., 2019). In the same way, there was a case reported in the year 2021, where a kid with a de novo mutation in β -globin gene was diagnosed with a low oxygen affinity hemoglobin variant (Hb St. George). The consequence of this variant was that oxygen was released more readily, leading to mild anemia without the associated increase in red blood cell production (erythrocytosis). The scientists said that 2,3-BPG is the primary factor influencing the oxygen transport equilibrium in those hemoglobin variants (Meznarich & et al., 2021). Furthermore, alterations in the BPGM gene result in a lower production of 2,3-BPG and a higher oxygen affinity, leading to a distinct clinical scenario. In this situation, the hemoglobin bonds with oxygen more strongly, the tissues become hypoxic, and the erythropoietin level rises as a reaction. Consequently, congenital erythrocytosis is formed (van Dijk & et al., 2023). Amazingly, a molecular-level analysis performed in 2019 discovered that the antioxidant flavonoid rutin mediates interactions between the 2,3-BPG mutase enzyme and deoxyhemoglobin thus upholding the structure of the cells and enhancing the delivery of oxygen in sickle cell erythrocytes. The results suggest that 2,3-BPG not only impacts the binding of oxygen but also the metabolism and the stability of the membrane of the red blood cells (Muhammad & et al., 2019).

Carbon Monoxide (CO) Poisoning

Carbon monoxide (CO) is a gas that cannot be seen or smelled and does not cause irritation. It is also one of the most frequent poisons that lead to unnoticed suffocation in people. The affinity of CO for hemoglobin is 230–300 times greater than that for oxygen, thus CO quickly attaches to the sites of hemoglobin where oxygen binds and produces carboxyhemoglobin (COHb) (Lee & Chen, 2025).

Molecular Mechanism of Action

The binding of CO to hemoglobin creates two critical effects:

Disabling Oxygen Transport: CO operates by forcing the hemoglobin to refuse oxygen since the COHb cannot thereafter bind oxygen.

Rise in Oxygen Affinity: The decline in the delivery of oxygen to the tissues is attributed to the fact that the remaining oxygen-saturated hemoglobin molecules are now binding more tightly. This results in a leftward movement of the oxygen dissociation curve (Fabre & et al., 1999).

On top of that, carbon monoxide affects the cytochrome oxidase enzyme at the cellular level, thereby interrupting mitochondrial respiration and causing tissue to lack oxygen (Gemelli & Cttani, 1985).

Physiological Results

The whole oxygen transport system is impacted by CO poisoning. The blood loses the total amount of oxygen due to the impairment of oxygenation; thus, the organs that are highly sensitive to oxygen, like the brain, heart, and kidneys, get the most injury. Carbon monoxide binds to hemoglobin, which eventually blocks oxygen from reaching the tissues, causing tissue hypoxia and lactic acidosis. Oxygen will be less likely to unload from hemoglobin due

to left-shifted oxygen dissociation curve (Alarbi & et al., 2023). In chronic low-dose exposures, neuronal degeneration and cardiac dysfunction may occur due to long-term hypoxia.

In a case report published in 2023, both cardiomyopathy and delayed neuropsychiatric complications (DNPS) were diagnosed in patients poisoned by acute CO (Alarbi & et al., 2023).

A clinically comparable study that was also published gave an account of two patients who, despite receiving hyperbaric oxygen treatment, developed delayed encephalopathy and made evident that carbon monoxide could cause a metabolic alteration in nerve tissue that would be irreversible (Thelen & et al., 2025).

Methemoglobinemia

Methemoglobinemia is the condition where the iron atom in hemoglobin gets oxidized from its ferrous (Fe^{2+}) state to its ferric (Fe^{3+}) state. Because the ferric form is incapable of binding oxygen, the result is functional anemia and tissue hypoxia. Under normal circumstances, the erythrocyte-located NADH-cytochrome b5 reductase enzyme reverts methemoglobin to hemoglobin. Nevertheless, if the system is disturbed or if it is simply overwhelmed with oxidizing agents, then the methemoglobin content rises to more than %1, and the condition called methemoglobinemia occurs (Mansouri & Lurie, 1993). The presence of increased methemoglobin causes the blood to have greater affinity for oxygen and at the same time, less oxygen is released to the tissues. In this situation, even though the PaO_2 value is normal, the blood is seen as dark brown, and the pulse oximeter measures a low SpO_2 value. This “dissociation” type of phenomenon causes the tissues to suffer from lack of oxygen (do Nascimento & et al., 2008).

Conclusion

Hemoglobin is a unique molecule that can transport oxygen very accurately due to its structural properties and allosteric regulation. Physiological adaptations and various clinical conditions rely on mechanisms such as the oxygen binding curve, the Bohr effect, and 2,3-BPG. As a result, the understanding of the biochemical properties of hemoglobin is crucial for clinical biochemistry and medical education.

References

Alarbi, K. M. S., Baghi, M. A., Varikkodan, I., Sirajudeen, J., Al-Aani, F., Purayil, N., & Naushad, V. A. (2023). Acute Cardiomyopathy and Delayed Neuropsychiatric Sequelae of Carbon Monoxide Poisoning: A Case Report. *Cureus*, 15(7), e42701.

Charache, S., & Grisolia, S. (1970). Effect of 2,3-diphosphoglycerate on oxygen affinity of blood in sickle cell anemia. *The Journal of Clinical Investigation*, 49(4), 806–812.

Chen, Y., & Yu, X. (2017). Phthalide derivatives from *Angelica sinensis* decrease hemoglobin oxygen affinity: A new allosteric-modulating mechanism and potential use as 2,3-BPG functional substitutes. *Scientific Reports*, 7, Article 4554.

Coryell, C. D., & Pauling, L. (1940). A structural interpretation of the acidity of groups associated with the hemes of hemoglobin and hemoglobin derivatives. *Journal of Biological Chemistry*, 132, 769–779.

do Nascimento, T. S., Pereira, R. O., de Mello, H. L., & Costa, J. (2008). Methemoglobinemia: from diagnosis to treatment. *Revista brasileira de anestesiologia*, 58(6), 651–664.

Fabre, M., Cabot, C., Ducassé, J.L., Virenque, C., Cathala, B., Breurec, J.Y., Valancony, V., Blevin, F., Baert, A.L., Charles, D., Arzel, Y., Presle, J.C., Curtes, J.P., Baek, S., Hwang, S., Moon, Y., Manel, J., Gabrion, I., Raspiller, M.F., Flesch, F., Krencker, E., Lambert, H., Jacques, L., Sanfaçon, G., Prévost, C., Blais, R., Leclerc, J., Cross, M., Guy, K., Pimlott, J.K., Rogers, M., Pankow, D., Damme, B., Green, E., Short, S., Shuker, L.K., & Harrison, P.T. (1999). Carbon Monoxide: The Unnoticed Poison of the 21 st

Century. Indoor and Built Environment, 8, 154-155.

Gemelli, C., & Cattani, S. (1985). Carbon monoxide poisoning in childhood. *BMJ (Clinical Research Edition)*, 291(6501), 1197.

Han, H., Liu, X., Wang, Y., Yu, L., Gao, S.-Q., & Lin, Y.-W. (2025). Structural and functional information of human hemoglobin subunit μ . *ChemBioChem*. Advance online publication.

Harper, H., Mozzarelli, A., Hofrichter, J., & Eaton, W. A. (2021). MWC allosteric model explains unusual hemoglobin–oxygen binding curves from sickle cell drug binding. *Biophysical Journal*, 120(12), 2543–2551.

Kosmachevskaya, O. V., & Topunov, A. F. (2018). Alternative and additional functions of erythrocyte hemoglobin. *Biochemistry (Moscow)*, 83(12), 1575–1593.

Lee, C., & Chen, H. (2025). The rationalization of carbon monoxide and hemoglobin association (bioRxiv preprint).

Mansouri, A., & Lurie, A. A. (1993). Methemoglobinemia. *American Journal of Hematology*, 42(1), 7–12.

Meznarich, J. A., Rets, A., Agarwal, A. M., Christensen, R. D., Reading, N. S., Kuypers, F. A., & Prchal, J. T. (2021). Novel, de novo, beta-globin variant with decreased oxygen affinity (HBB:c.317T>A, "Hemoglobin St. George") in a healthy child with low oxygen saturations and anemia. *American journal of hematology*, 96(12), E448–E450.

Muhammad, A., Waziri, A. D., Forcados, G. E., Sanusi, B., Sani, H., Malami, I., Abubakar, I. B., Oluwatoyin, H. Y., Adinoyi, O. A., & Mohammed, H. A. (2019). Sickling-preventive effects of

rutin is associated with modulation of deoxygenated haemoglobin, 2,3-bisphosphoglycerate mutase, redox status and alteration of functional chemistry in sickle erythrocytes. *Heliyon*, 5(6), e01905.

Perumcheril, R. (2017). Heme metabolism and hemoglobins. In *Biochemistry* (pp. 382–382). Jaypee Brothers Medical Publishers.

Salvatore, F., Brunello, F. G., Schuster, C. D., & Martí, M. A. (2025). *A structure- and function-based complete mutational map of human hemoglobin using AI* (bioRxiv preprint).

Scrima, R., & Fugetto, S. (2019). Hemoglobin non-equilibrium oxygen dissociation curve (bioRxiv preprint).

Senoo, A., Hoshino, M., Shiomi, T., et al. (2024). Structural basis for the recognition of human hemoglobin by the heme-acquisition protein Shr from *Streptococcus pyogenes*. *Scientific Reports*, 14, 5374.

Standnes, B. (2023). Ab initio quantification of the oxygen–hemoglobin dissociation curve. *Biophysical Reports*, 3(3), 100113.

Tandon, L., Thakur, P., Singh, K., Khullar, P., Ahluwalia, G., & Bakshi, M. (2020). Photophysical behavior of heme group: Unfolding of hemoglobin and myoglobin in the presence of Gemini surfactants of different molecular architectures. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 1764–1774.

Thelen, T., & Naber, K. Raimer, M. (2025). A rare delayed neuropsychiatric encephalopathy after hyperbaric oxygen treatment for carbon monoxide poisoning. *Graduate Medical Education Research Journal*.

van Dijk, M. J., van Oirschot, B. A., Stam-Slob, M. C., Waanders, E., van der Zwaag, B., van Beers, E. J., Jans, J. J. M., van

der Linden, P. W., Torregrosa Diaz, J. M., Gardie, B., Girodon, F., Schots, R., Thielen, N., & van Wijk, R. (2023). Heterozygosity for bisphosphoglycerate mutase deficiency expressing clinically as congenital erythrocytosis: A case series and literature review. *British journal of haematology*, 200(2), 249–255.

Woyke, A., & Oberacher, H. (2025). A new approach to haemoglobin oxygen affinity research at high altitude: Determination of haemoglobin oxygen dissociation curves and 2,3-bisphosphoglycerate in an experimental human crossover hypoxic chamber study. *European Journal of Applied Physiology*.

BÖLÜM 10

THE ROLE OF PERIOSTIN AND ENDOCAN IN EYE DISEASE

NURDAN GAMZE TAŞLI¹

Introduction

Periostin

Periostin is a matricellular protein that was first isolated from osteoblasts and was found to be expressed at a higher level in the periosteum (Takeshita & et al.,1993). Periostin is comprised of an N-terminal secretory signal peptide, succeeded by a cysteine-rich domain (EMI domain), four internal homologous repeats (FAS domains), and a C-terminal hydrophilic domain that is alternatively spliced (Takeshita & et al., 1993; Horiuchi & et al.,1999). The four internal repeats exhibit homology to the axon guidance protein fasciclin I, which is involved in the development of the nervous system in invertebrates. Consequently, they were designated fasciclin domains. The EMI domain, so designated due to its association with the EMILIN family, has been observed to bind to collagen I and fibronectin. In contrast, the FAS-domains have been

¹Associate Prof .Dr, Trabzon University , Faculty of Medicine, Department of Ophthalmology ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8587-3430>

demonstrated to bind to tenascin-C and bone morphogenic protein 1 (BMP1) (Maruhashi & et al.,2010; Norris & et al.,2007).

The C-terminal domain exhibits a high degree of alternative splicing, has been shown to bind heparin and heparan sulfate proteoglycans (HSPGs), and has been demonstrated to modulate the binding mediated by the other domains (Kii & Ito, 2017). As a matricellular protein, periostin is primarily localised in the extracellular matrix (ECM), with some of its activities being mediated by its binding to cell surface receptors belonging to the integrin family (Kudo A& Kii, 2018). It has been demonstrated that periostin is expressed in a manner that is distinct from its neighbouring tissues (typically with an increased level of expression), in a range of allergic manifestations, inflammation and tumours. Periostin expression in a tissue-specific context is subject to regulation by several proteins, including transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) , bone morphogenetic proteins (BMPs) 2 and 4 (Lindner & et al.,2005) , various interleukins (IL-3, 4, 6 and 13) , erbB3 activation involving neuregulins (NRGs) ,vascular endothelial growth factor, vitamin K and others (Conway & et al.,2014). It is acknowledged that different splice variants generate different isoforms of periostin, and it is conceivable to assume that the different isoforms could be contributing to the huge variety of functions reported for periostin (Hoersch & et al.,2010). These multifaceted functions encompass epithelial-mesenchymal transition, niche formation, regeneration, tissue repair, inflammatory processes, fibrosis and angiogenesis. Regeneration and repair are delayed in the absence of periostin (Shimazaki & et al.,2008). However, its expression is not always beneficial, as periostin can also be a driver of fibrosis (Naik & et al.,2012). EMT has been demonstrated to be implicated in fibrosis , and periostin has been identified as a pivotal factor in EMT (Hu & et al.,2017). It has been demonstrated that cell proliferation is enhanced by periostin during

normal development in disease (Bible,2012).Angiogenesis, which is a prerequisite for a variety of processes in development and disease, is also positively influenced by the expression of periostin (Keklikoglou & et al.,2018). Another function of periostin is to facilitate migration(Sonnenberg&Miehe,2018). Several of the pathways activated by periostin during these processes have been elucidated. However, there is little information available on the different isoforms and their potential contribution to these processes (Kii & et al.,2010).

Periostin in Eye Diseases

The transparency of the eye can be affected by various eye diseases. It has recently been reported that periostin plays a pivotal role in the pathogenesis of various eye diseases, including diabetic retinopathy, age-related macular degeneration, glaucoma, corneal dystrophy and chronic ocular allergic disease.

Diabetic retinopathy (DR) is one of the leading causes of vision loss in working-age populations worldwide. Retinal neovascularisation (NV) arises at an advanced stage of DR, leading to proliferative DR (PDR) (Yoshida & Ishibashi,1999). Vision loss can result from abnormal FVM formation, which can lead to intravitreal haemorrhage and tractional retinal detachment (Hiscott et al.,2000). The mRNA of periostin was detected in all of the FVMs obtained from the patients with PDR. In contrast, it was barely detectable in the normal retinas (Nakama & Ishikawa,2016). In a study conducted, the amount of periostin in vitreous samples collected from patients with proliferative diabetic retinopathy (PDR) during vitrectomy and from patients undergoing secondary epiretinal membrane (ERM) or macular hole presence of FVMs, suggesting that periostin is closely related to FVM formation in PDR (Yoshida, Ishikawa & Asato,2011).

Age-related macular degeneration (AMD) is a leading cause of a severe vision loss in the older population of developed countries (De Jong PT, 2006). It is estimated that the prevalence of AMD will increase, which would then accelerate both the medical and social burdens of the countries. At the advanced stage of AMD that is choroidal FVMs, which is made up of choroidal neovascularization (CNV) and choroidal fibrosis, can lead to severe vision loss (Schlingemann, 2004). In this process, there is proliferation, migration and adhesion of various types of cells, including vascular endothelial cells, RPE cells, fibroblasts, glial cells and macrophages/monocytes. There is also deposition of extracellular matrix proteins (Bloch et al., 2013). Several growth factors, such as VEGFs, placental growth factor, tenascin-C, connective tissue growth factor and TGF- β s and their receptors, are involved in this process (Kobayashi, Yoshida & Zhou, 2016). To investigate the potential involvement of periostin in the formation of choroidal FVMs, the expression of periostin mRNA in RPE-choroid complexes following laser injury was compared with that in normal RPE-choroid complexes using a mouse model of laser-induced CNV. The expression of periostin mRNA in the CNV model group was significantly higher than in the control group, reaching a peak on day 14 (Nakama et al., 2015).

Glaucoma is an optic neuropathy that affects approximately 60 million people worldwide, and is the second most common cause of irreversible vision loss. The major risk factor for developing glaucoma is elevated intraocular pressure (IOP), which is caused by disturbed aqueous humour drainage through the trabecular meshwork (TM) and Schlemm's canal (SC). In primary open-angle glaucoma (POAG), elevated IOP leads to deformation of the optic nerve head (ONH), especially in the lamina cribrosa (LC) region, where there is deposition of extracellular matrix (ECM) molecules, such as collagen and fibronectin (Wallace et al., 2014). Zhao et al.

showed a significant role for periostin in the structural integrity of TM tissues.)The collagen fibers in periostin TM were significantly disrupted, with larger empty spaces, representing abnormal distribution or even absence of collagen fibers. In addition, because of lack of support from normal collagen fibers, the trabecular cytoplasm became uneven and showed severe distortions (Zhao et al.,2013).Overall, these results substantiate a role for periostin in maintaining the mechanical strength and structural integrity of TM tissue. Human glaucomatous TM tissues expressed decreased levels of periostin in comparison to the levels expressed in normal human TM.

Corneal dystrophies are characterized by the progressive loss of corneal transparency as a result of extracellular amyloid and non-amyloid deposits, which accumulate in different layers of corneal tissues. 5q31-linked corneal dystrophies are pathologically heterogeneous, autosomal dominant disorders caused by mutations in the TGFBI (transforming growth factor- β -induced) gene, encoding the TGFBI protein (also known as keratoepithelin or Big-H3) (Stone et al.,1994). The different mutations in TGFBI cause clinically different types of corneal dystrophies, which are classified according to the accumulation patterns of the deposits. Corneal dystrophy-linked mutations in TGFBI disrupt its subcellular localization and impair its association with periostin. Moreover, it was reported that periostin accumulates in extracellular corneal deposits in GCD II patients caused by homozygous R124H mutations in TGFBI.These findings indicate that TGFBI and periostin may play coordinated cellular roles, and that periostin might be involved in the pathogenesis of 5q31-linked corneal dystrophies (Kim et al.,2009).

The clinical courses and responses to treatment differ among the various ocular allergic diseases. Vernal keratoconjunctivitis (VKC) and atopic keratoconjunctivitis (AKC) are chronic and more

severe conditions that can result in corneal changes, tissue remodelling and fibrosis, such as corneal ulcers and giant papilla formation, which can lead to vision loss (Takamura et al.,2011). It is crucial to accurately diagnose and determine the severity of each chronic ocular allergic disease in order to decide on therapeutic strategies and prevent severe comorbidities. Fujishima et al. showed that tears from patients with ocular allergic disease contained significantly higher levels of periostin than those from patients with allergic conjunctivitis and from patients with VKC, AKC and SAC, in that order. Tear periostin was associated with serious comorbidities including large papilla formation and corneal disturbance in AKC, although both tear IL-13 and serum periostin had little or no such abilities (Fujishima et al.,2016). They concluded that periostin, produced in conjunctival tissues stimulated by IL-13, may be involved in the pathogenesis of ocular allergic diseases. In addition, tear periostin could potentially be used as a biomarker to diagnose allergic conjunctivitis and evaluate disease severity and the efficacy of treatments in AKC.

Endocan

Endocan, also referred to as endothelial cell-specific molecule-1 (ESM-1) was first identified in human umbilical vein endothelial cells in 1996 (Lassalle & et al.,1996). It is a soluble proteoglycan bearing a dermatan sulfate side chain that is primarily produced and released by endothelial cells following activation, with prominent expression in the vascular endothelium of the lungs and kidneys (Scuruchi & et al.,2021). Its expression profile is strongly influenced by inflammatory signaling pathways. Several pro-inflammatory mediators, including tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), bacterial lipopolysaccharide, as well as angiogenic stimuli such as vascular endothelial growth factor (VEGF), have been proved to enhance endocan synthesis and secretion. In contrast, interferon- γ suppresses endocan expression (Scuruchi & et al.,2021).

Functionally, endocan is involved in several key cellular events, including cell differentiation, migration, and adhesion. Although the regulatory mechanisms controlling its synthesis are not fully clarified, it is well established that mediators such as VEGF-A, VEGF-C, TNF- α , IL-1, fibroblast growth factor-2 (FGF-2), and transforming growth factor- β 1 enhance its expression, whereas phosphoinositide 3-kinase (PI3K) signaling and interferon- γ suppress it. VEGF stimulation leads to increased endocan levels, and endocan, in turn, potentiates VEGF-induced mitogenic and migratory signaling, forming a positive autocrine feedback loop that strengthens VEGF-driven responses (Kali & Shetty ,2014). Due to this close interaction, endocan has emerged as a critical mediator in inflammatory processes and angiogenesis, thereby contributing to the pathogenesis of multiple diseases. Indeed, endocan is considered a key molecule through which VEGF exerts its vascular growth-promoting effects (Kali & Shetty ,2014). Clinical studies have demonstrated a significant positive correlation between serum endocan and VEGF concentration (Kılıç & et al.,2014). Additionally, there was a significant positive correlation between serum endocan and TNF- α levels in the patient group. Endocan has also been identified as a regulator of lymphangiogenesis, suggesting it could serve as a potential target for blocking abnormal growth and activation of lymphatic vessels driven by VEGF-A or VEGF-C (Shin & et al.,2008).

The Structure of Endocan

Endocan is a proteoglycan with an approximate molecular weight of 50 kDa, consisting of a protein core to which a linear glycosaminoglycan (GAG) chain is covalently attached. The protein core is composed of two main domains: a cysteine-rich region containing 110 amino acids and a cysteine-free region comprising 55 amino acids (Balta & et al.,2015). The cysteine-free domain is further subdivided into three distinct segments, namely an epidermal

growth factor (EGF)-like region, a phenylalanine-rich region, and a C-terminal region (Delehedde , Devenyns & Maurage et al.,2015). During post-translational processing, the GAG chain is specifically linked to serine residue 137 of the protein core . In contrast to most proteoglycans, which are typically localized within the extracellular matrix or transiently associated with the cell surface, endocan is predominantly secreted into the circulation, and its soluble form can be readily detected in human serum (Bechard & et al.,2001).

Regulation of Endocan Expression

The stimulatory effect of pro-inflammatory cytokines on endocan production was first reported by Lassalle et al. (Lassalle & et al.,2015). Their findings demonstrated that exposure of endothelial cells to TNF- α or IL-1 β leads to a time-dependent increase in endocan expression, whereas IL-4 or interferon- γ (IFN- γ) alone does not induce a similar response. Although TNF- α and IFN- γ are known to act synergistically to promote the expression of pro-inflammatory mediators in endothelial cells, endocan appears to counteract the influence of IFN- γ on TNF- α -induced endocan gene expression (Lassalle & et al.,2015). This observation suggests that endocan may exert context-dependent regulatory functions during inflammatory responses. Subsequent studies by Hsiao et al. (Hsiao & et al.,2018). corroborated these results in the setting of sepsis and further revealed that VEGF-A selectively enhances endocan transcription, whereas other growth factors such as FGF-2, PDGF-BB, HGF/SF, and EGF do not produce a comparable effect (Rennel & et al.,2007). From a clinical perspective, circulating endocan levels have been shown to correlate positively with IL-6 and negatively with IL-10 concentrations (Wu & et al.,2020). Structural variability in endocan, including differences in the composition of its dermatan sulfate chains, may partially explain its wide range of biological effects, similar to other proteoglycans regulated by TGF- β and FGF-2 (Brown & et al.1999). In addition, endocan contributes

to inflammatory processes by enhancing the expression of endothelial adhesion molecules such as ICAM-1, VCAM-1, and E-selectin. ICAM-1 plays a central role in leukocyte adhesion, endothelial activation, and cell migration, events that may initiate angiogenic processes. VCAM-1 is particularly important for the recruitment of monocytes and lymphocytes during early atherosclerosis and acute inflammatory states, while ICAM-1 expression persists throughout all stages of atherosclerotic disease (Sun & et al.1999). Intermittent hypoxia has been shown to further increase endocan levels through activation of the HIF-1 α /VEGF signaling pathway, thereby augmenting ICAM-1 and VCAM-1 expression and promoting monocyte adhesion (Sun & et al.1999). These findings indicate that endocan may function as either a pro-inflammatory or anti-inflammatory modulator depending on the surrounding microenvironment(Balta & et al.,2015).

Reactive Oxygen Species and Endocan

Disruption of endothelial integrity is associated with excessive generation of reactive oxygen species (ROS), which leads to decreased bioavailability of nitric oxide (NO) through calcium-dependent intracellular mechanisms (Balta & et al.,2015). Persistent oxidative stress combined with impaired NO signaling promotes chronic inflammation, enhances leukocyte adhesion, and accelerates lipid and lipoprotein accumulation within the subendothelial space (Shin & et al.,2008). These processes underscore the relevance of endocan as a potential biomarker of endothelial dysfunction and inflammatory activity. Accordingly, endocan is considered a novel indicator of endothelial cell activation and plays a significant role in mediating leukocyte–endothelial interactions.

Endocan in Eye Diseases

In Behçet's disease, endocan is considered to affect both the inflammatory process and endothelial function in the pathogenesis (Kılıç & et al.,2014). Elevated serum endocan levels have been reported in patients with branch retinal vein occlusion (BRVO) compared with healthy controls (Önder & et al.,2020). Similarly, increased aqueous humor concentrations of VEGF and endocan have been observed in patients with central retinal vein occlusion (CRVO), suggesting that endocan, together with VEGF, participates in the pathophysiology of retinal vein occlusion (Yasuda & et al.,2024). Increased expression of endocan-1 in hypoxic retinal tissue may be associated with reduced tight junction protein expression and enhanced endothelial permeability, thereby contributing to macular edema development (Yıldırım& et al.,2025). Furthermore, significantly higher serum endocan levels have been documented in patients with diabetic retinopathy (Yıldırım & et al.,2025). and elevated vitreous endocan concentrations have been detected in individuals with proliferative diabetic retinopathy (PDR), where it has been linked to angiogenic activity (Abu El-Asrar & et al.,2015). These findings raise the possibility that therapeutic strategies targeting endocan may offer an alternative or adjunct to existing anti-VEGF therapies. Although intravitreal anti-VEGF injections remain the standard treatment for macular edema, a proportion of patients exhibit suboptimal responses or experience recurrent disease (Wallsh & et al.,2016). In experimental mouse models, intravitreal inhibition of endocan has been shown to reduce retinal, choroidal, and subretinal neovascularization, along with a decrease in several pro-angiogenic mediators, supporting the potential of endocan as a therapeutic target in retinal and subretinal neovascular disorders (Su & et al.,2018). In a separate investigation, endocan was identified as a direct downstream target of microRNA-181a-5p. The inhibitory effect of miR-181a-5p on retinal neovascularization was confirmed through intravitreal administration, and this effect was shown to be mediated via the

ERK1/2 signaling pathway. These findings indicate that the miR-181a-5p–endocan axis modulates retinal angiogenesis through ERK1/2 signaling and may offer a promising therapeutic approach for the treatment of retinal neovascularization (Zhang & et al.,2020).

References

Abu El-Asrar AM, Nawaz MI, De Hertogh G, et al. (2015) Endocan is upregulated in proliferative diabetic retinopathy and correlates with VEGF. *Curr Eye Res.*;40(3):321–331.

Bible E. Nephrol (2014) Polycystic Kidney Disease: Periostin is Involved in Cell Proliferation and Interstitial Fibrosis in Polycystic Kidney Disease. *Nat Rev* 10(2):66.

Bloch SB, Lund-Andersen H, Sander B et al (2013) Subfoveal fibrosis in eyes with neovascular age-related macular degeneration treated with intravitreal ranibizumab. *Am J Ophthalmol* 156:116–124. e111

Brown CT, Nugent MA, Lau FW, Trinkaus-Randall V.(1999) Characterization of proteoglycans synthesized by cultured corneal fibroblasts in response to transforming growth factor- β . *J Biol Chem.* 274:7111–7119.

Bechara D, Scherpereel A, Hammad H, Gentina T, Tsicopoulos A, Aumercier M, et al. (2001) Human endothelial cell-specific molecule-1 binds integrin CD11a/CD18 and blocks ICAM-1 binding. *J Immunol.*;167:3099–3106.

Balta S, Mikhailidis DP, Demirkol S, et al. (2015) Endocan: a novel inflammatory indicator in cardiovascular disease? *Front Cardiovasc Med.*;243(1):339–343. doi:10.3389/fcvm.2021.798699

Bechara D, Gentina T, Delehedde M, Scherpereel A, Lyon M, Aumercier M, et al.(2001) Endocan is a novel chondroitin sulfate/dermatan sulfate proteoglycan that promotes hepatocyte growth factor/scatter factor mitogenic activity. *J Biol Chem.* ;276:48341–48349. doi:10.1074/jbc.M108395200

Conway SJ, Izuhara K, Kudo Y, Litvin J, Markwald R, Ouyang G, et al. (2014) The Role of Periostin in Tissue Remodeling Across Health and Disease. *Cell Mol Life Sci* 71(7):1279–88.

De Jong PT (2006) Age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 355:1474–1485

Delehedde M, Devenyns L, Maurage CA, Vives RR.(2013) Endocan in cancers: a lesson from a circulating dermatan sulfate proteoglycan. *Int J Cell Biol.* ;2013:705027. doi:10.1155/2013/705027

Fujishima H, Okada N, Matsumoto K et al (2016) The usefulness of measuring tear periostin for the diagnosis and management of ocular allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 138:459—467 e452

Gaudet A, Portier L, Prin M, Copin MC, Tsicopoulos A, Mathieu D, et al.(2019) Endocan regulates acute lung inflammation through control of leukocyte diapedesis. *J Appl Physiol.*;127:668–678.

Gaudet A, Portier L, Mathieu D, Hureau M, Tsicopoulos A, Lassalle P, et al.(2020) Cleaved endocan acts as a biologic competitor of endocan in ICAM-1-dependent leukocyte diapedesis. *J Leukoc Biol.*;107:833–841.

Hu WW, Chen PC, Chen JM, Wu YM, Liu PY, Lu CH, et al. (2017) Periostin Promotes Epithelial-Mesenchymal Transition via the MAPK/miR-381 Axis in Lung Cancer. *Oncotarget* 8(37):62248–60.

Hiscott P, Wong D, Grierson I (2000) Challenges in ophthalmic pathology: the vitreoretinal membrane biopsy. *Eye* 14(Pt 4):549–559

Horiuchi K, Amizuka N, Takeshita S, Takamatsu H, Katsuura M, Ozawa H, et al. (1999) Identification and Characterization of a Novel Protein, Periostin, With Restricted Expression to Periosteum and Periodontal Ligament and Increased Expression by

Transforming Growth Factor Beta. J Bone Miner Res 14(7):1239–49.

Hsiao SY, Kung CT, Tsai NW, Su CM, Huang CC, Lai YR, et al.(2018) Concentration and value of endocan on outcome in adult patients after severe sepsis. Clin Chim Acta.;483:275–280.

Kılıç L, Küçükşahin O, Aydın SZ, et al.(2014) Serum endocan levels and disease activity in Behçet's disease. Arch Rheumatol. ;70(2):291-296

Keklikoglou I, Kadioglu E, Bissinger S, Langlois B, Bellotti A, Orend G, et al. (2018) Periostin Limits Tumor Response to VEGFA Inhibition. Cell Rep 22(10):2530–40.

Kobayashi Y, Yoshida S, Zhou Y et al (2016) Tenascin-C promotes angiogenesis in fibrovascular membranes in eyes with proliferative diabetic retinopathy. Mol Vis 22:436–445

Kim BY, Olzmann JA, Choi SI et al (2009) Corneal dystrophy-associated R124H mutation disrupts TGFBI interaction with periostin and causes mislocalization to the lysosome. J Biol Chem 284:19580–19591

Kii I, Ito H. (2017) Periostin and its Interacting Proteins in the Construction of Extracellular Architectures. Cell Mol Life Sci 74(23):4269–77.

Kudo A, Kii I. (2018) Periostin Function in Communication With Extracellular Matrices. J Cell Communication Signaling 12(1):301–8.

Kali A, Shetty KS.(2014) Endocan: a novel circulating proteoglycan. Indian J Pharmacol.;46(6):579–583.

Kechagia M, Papassotiriou I, Gourgoulisanis KI.(2016) Endocan and the respiratory system: a review. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.;11:3179–3187.

Lindner V, Wang Q, Conley BA, Friesel RE, Vary CP. (2005) Vascular Injury Induces Expression of Periostin: Implications for Vascular Cell Differentiation and Migration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25(1):77–83.

Lassalle P, Molet S, Janin A, Van Heyden J, Tavernier J, Fiers W, et al. (1996) ESM-1 is a novel human endothelial cell-specific molecule expressed in lung and regulated by cytokines. *J Biol Chem.* ;271:20458–20464. doi:10.1074/jbc.271.34.20458

Lassalle P, Molet S, Janin A, Van Heyden J, Tavernier J, Fiers W, et al. (1996) ESM-1 is a novel human endothelial cell-specific molecule expressed in lung and regulated by cytokines. *J Biol Chem.* ;271:20458–20464. doi:10.1074/jbc.271.34.20458

Maruhashi T, Kii I, Saito M, Kudo A. (2010) Interaction Between Periostin and BMP-1 Promotes Proteolytic Activation of Lysyl Oxidase. *J Biol Chem* 285(17):13294–303.

Naik PK, Bozyk PD, Bentley JK, Popova AP, Birch CM, Wilke CA, et al. (2012) Periostin Promotes Fibrosis and Predicts Progression in Patients With Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 303(12):L1046–56.

Nakama T, Yoshida S, Ishikawa K et al (2016) Different roles played by periostin splice variants in retinal neovascularization. *Exp Eye Res* 153:133–140.

Nakama T, Yoshida S, Ishikawa K et al (2015) Inhibition of choroidal fibrovascular membrane formation by new class of RNA interference therapeutic agent targeting periostin. *Gene Ther* 22:127–137

Norris RA, Damon B, Mironov V, Kasyanov V, Ramamurthi A, Moreno-Rodriguez R, et al. (2007) Periostin Regulates Collagen Fibrillogenesis and the Biomechanical Properties of Connective Tissues. *J Cell Biochem* 101(3):695–711.

Nirala BK, Perumal V, Gohil NK.(2015) Glycated serum albumin stimulates expression of endothelial cell-specific molecule-1 in human umbilical vein endothelial cells. *Diab Vasc Dis Res.*;12:290–297.

Önder F, Koçak N, Yılmaz G, et al.(2020) Serum endocan levels in patients with branch retinal vein occlusion. *Retina-Vitreus.* ;29:238-241.

Rennel E, Mellberg S, Dimberg A, Petersson L, Botling J, Ameer A, et al.(2007) Endocan is a VEGF-A and PI3K-regulated gene with increased expression in human renal cancer. *Exp Cell Res.*;313:1285–1294.

Shimazaki M, Nakamura K, Kii I, Kashima T, Amizuka N, Li M, et al. (2008) Periostin is Essential for Cardiac Healing After Acute Myocardial Infarction. *J Exp Med* 205(2):295–303.

Schlingemann RO (2004) Role of growth factors and the wound healing response in age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 242:91–101

Stone EM, Mathers WD, Rosenwasser GO et al (1994) Three autosomal dominant corneal dystrophies map to chromosome 5q. *Nat Genet* 6:47–51

Sun H, Zhang H, Li K, Wu H, Zhan X, Fang F, et al.(2019) ESM-1 promotes adhesion between monocytes and endothelial cells under intermittent hypoxia. *J Cell Physiol.* ;234:1512–1521.

Scuruchi M, D’Ascola A, Avenoso A, Mandraffino G, Campo S, Campo GM. (2021) Endocan, a novel inflammatory marker, is upregulated in human chondrocytes stimulated with IL-1 β . *Mol Cell Biochem.*;476:1589–1597. doi:10.1007/s11010-020-04001-4

Su T, Zhong Y, Demetriades AM, et al.(2018) Endocan blockade suppresses experimental ocular neovascularization in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* ;59:930–939.

Shin JW, Huggenberger R, Detmar M.(2008) Transcriptional profiling of VEGF-A and VEGF-C target genes in lymphatic endothelium reveals endothelial-specific molecule-1 as a novel mediator of lymphangiogenesis. *Blood*;112(6):2318–2326.

Takeshita S., Kikuno R., Tezuka K, Amann E. (1993) Osteoblast-Specific Factor 2: Cloning of a Putative Bone Adhesion Protein With Homology With the Insect Protein Fasciclin I. *Biochem J* 294(Pt 1)

Takamura E, Uchio E, Ebihara N et al (2011) Japanese guideline for allergic conjunctival diseases. *Allergol Int* 60:191-203

Wallace DM, Murphy-Ullrich JE, Downs JC et al (2014) The role of matricellular proteins in glaucoma. *Matrix Biol* 37:174–182

Wu X, Luo J, Huang W, Jia B, Luo T.(2020) Role of ascitic endocan levels in the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis in decompensated cirrhosis. *Biomarkers*. 25:360–366.

Wallsh J, Sharareh B, Gallemore R. (2016) Therapeutic effect of dexamethasone implant in retinal vein occlusions resistant to anti-VEGF therapy. *Clin Ophthalmol.* ;10:947–954.

Yoshida S, Ishikawa K, Asato R et al (2011) Increased expression of periostin in vitreous and fibrovascular membranes obtained from patients with proliferative diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52:5670–5678.

Yıldırım M, Çinici E, Çelik M, İçtaş S.(2025) Assessment of serum endothelial cell-specific molecule-1 (ESM-1, endocan) levels in patients with diabetic retinopathy. *Eurasian J Med.* 57(4), 1038, doi:10.5152/eurasianjmed.2025.251038.

Yasuda K, Noma H, Mimura T, Nonaka R, Sasaki S, Ofusa A, Shimura M.(2024) Role of novel inflammatory factors in central retinal vein occlusion with macular edema. *Medicina.* ;60(1):4.

Y18.Yoshida A, Yoshida S, Ishibashi T et al (1999) Intraocular neovascularization. *Histol Histopathol* 14:1287–1294

Zhao Y, Wang S, Sorenson CM et al (2013) Cyp1b1 mediates periostin regulation of trabecular meshwork development by suppression of oxidative stress. *Mol Cell Biol* 33:4225–4240

Zhang Y, et al. (2020) MicroRNA-181a-5p inhibits retinal neovascularization by targeting endocan via ERK1/2 signaling. *J Cell Physiol.* ;235:9323–9335. doi:10.1002/jcp.29733

