



# Hücre Ölüm Mekanizması Ferroptozun Alzheimer Patogenezindeki Rolü

Received: 03/12/2024

Published: 31/12/2024

Doi: 10.71051/jnlm.1595473

Hilal KOYUNCU\*, Tuğba KESKİN, Şengül TURAL

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye \*Sorumlu Yazar: hilal.koyuncu@omu.edu.tr

## ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia, accounting for approximately 60-80% of all cases. Despite significant efforts over the years, the exact mechanisms of AD remain incompletely understood. Recently, the roles of iron metabolism, lipid peroxidation, and oxidative stress in the pathogenesis of AD have garnered considerable attention. Moreover, it should be noted that these pathological events are important regulators of a form of cell death known as ferroptosis. Increasing evidence suggests that ferroptosis may be associated with neurological dysfunction in AD. However, the underlying mechanisms have not yet been fully elucidated. The aim of this review is to examine the basic mechanisms of ferroptosis and to comprehensively discuss the potential interactions between AD and ferroptosis within the framework of iron metabolism, lipid peroxidation, and the glutathione/glutathione peroxidase 4 axis.

## Keywords

*Ferroptosis, Iron Metabolism, Lipid Peroxidation, Alzheimer's Pathogenesis, Cell Death Mechanism*

## ÖZET

Alzheimer hastalığı (AH), demansın en yaygın nedenidir ve tüm vakaların yaklaşık %60-%80'ini oluşturmaktadır. Yıllar içinde büyük çabalar harcanmış olmasına rağmen, AH'nin tam mekanizması henüz tamamen aydınlatılamamıştır. Son zamanlarda, AH patogenezinde demir metabolizması, lipid peroksidasyonu ve oksidatif stresin rolleri büyük ilgi görmeye başlamıştır. Ayrıca, bu patolojik olayların, ferroptoz adı verilen hücre ölümünün önemli düzenleyicileri olduğunu da belirtmek gerekir. Artan kanıtlar, ferroptozun AH'de nörolojik fonksiyon bozukluklarıyla ilişkili olabileceğini göstermektedir. Ancak, altındaki mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Bu derlemenin amacı, ferroptozun temel mekanizmalarını gözden geçirmek; AH ve ferroptoz arasındaki potansiyel etkileşimi demir metabolizması, lipid peroksidasyonu ve glutatyon/glutatyon peroksidaz 4 ekseninde kapsamlı bir şekilde ele almaktır.

## Anahtar Kelimeler

*Ferroptoz, Demir Metabolizması, Lipid Peroksidasyonu, Alzheimer Patogenez, Hücre Ölüm Mekanizması*



## GİRİŞ

### Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı (AH), bilişsel bozukluklar, hafıza dengesizliği ve davranışsal anormalliklerle tanımlanan yaşa bağlı bir nörodejeneratif hastalıktır. Klinik olarak, epizodik bellek ve kelime bulma, mekansal biliş ve problem çözme gibi ek bilişsel işlevlerin bozulmasıyla karakterizedir (Sun ve ark., 2023). Alzheimer hastalığı (AH) en sık görülen nörodejeneratif hastalıktır ve tüm demans vakalarının %60-70'ini oluşturur. Parkinson ve iskemi ile birlikte sağlıklı beyin bozulmasının önemli nedenlerinden biridir. AH, özellikle 65 yaşın üzerindeki kişilerde bellekle ilgili davranış değişiklikleri ve engellilik üretebilen çok faktörlü bir hastalık olarak kabul edilmektedir. AH hastalarında bellek bozukluğu işlevleri, insani, sosyal ve ekonomik yüklerle birlikte sürekli olarak epidemi kriterlerine yaklaşmaktadır. Son zamanlarda dünya çapında 50 milyondan fazla kişiye AH tanısı konmuştur. İstatistiksel veriler her 4 saniyede bir kişiye AH tanısı konulduğunu ve buna bağlı olarak 2050 yılına kadar AH tanısı alan hasta sayısının 152 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir. Toplumdaki AH hastalarının %10-30'u 65 yaş üstü yaşlı nüfustan oluşmaktadır. Şu anda, AH'ın tam tedavisi ve yönetimi için terapötik bir ajan mevcut değildir. Nörotransmitter trafiğini kontrol eden karmaşık biyolojik süreçlerin ilişkisi henüz netlik kazanmamıştır (Patterson, 2018; Verma ve ark., 2022).

AH, nörodejeneratif ve belirgin bir protein konformasyon hastalığıdır ve temelde normal şartlarda çözünür olan proteinlerin anormal işlenmesi ve polimerizasyonundan kaynaklanmaktadır. Yanlış katlandığında, çözünebilir nöronal proteinler genetik mutasyon, dış faktörler veya yaşlanma nedeniyle değişmiş konformasyonlara ulaşır ve bu durumun birikmesiyle anormal nöronal işlevler ve kayıplar meydana gelir. AH'ın nörodejeneratif bir hastalık olarak keşfedilmesi, hafıza kaybı, dil, yönelim bozukluğu ve halüsinasyonlardan muzdarip 51 yaşındaki Auguste Deter adlı bir kadını muayene eden Alman nörolog Alois Alzheimer'a atfedilmektedir. Otopsisinde serebral kortekste plaklar ve yumaklar tespit

edilmiştir, bu da onu, tipik demansın ötesine geçtiğini düşündürmüştür. Bu keşfi sayesinde demans hastalarında nöritik amiloid  $\beta$  ( $A\beta$ ) plaklarının varlığını ortaya koyan daha ileri araştırmaların yapılmasını sağlamıştır. Hastalığın genç yaşta başlaması, nadir ancak güçlü bir neden olan Presenilin-1 ( $PS1$ ) genetik mutasyonuna yatkınlığa bağlanmaktadır (Tiwari ve ark., 2019). Dünya çapında çeşitli bilim insanları ve araştırmacılar AH gelişiminde rol oynayan çeşitli patofizyolojileri keşfetmek için büyük çaba sarf etmektedir. Nörotransmitter trafiğini kontrol eden karmaşık biyolojik süreçlerin ilişkisi henüz net değildir. Şimdiye kadar karmaşık beyin fonksiyonlarına dayanan ve birkaç bilinen AH ile ilişkili hipotezler öne sürülmüştür. Bunlar; amiloid-beta ( $A\beta$ ) agregasyonu, tau hiperfosforilasyonu, sinaptik asetilkolin ( $ACh$ ) seviyelerinde azalma, nöronal distrofi gibi çeşitli patofizyolojik özelliklerdir ve AH'ın ilerlemesinde önemli bir oynamaktadır (Tiwari ve ark., 2019).

Alzheimer hastalığının en erken evresi (hücre evre), tau patolojisinin yayılmasını tetikleyen amiloid  $\beta$ 'nin birikmesiyle paralel olarak gerçekleşir. Alzheimer hastalığı riski %60-80 oranında kalıtsal faktörlere bağlıdır ve halihazırda 40'tan fazla Alzheimer hastalığıyla ilişkili genetik risk lokusu tanımlanmıştır ve bunların arasında Apolipoprotein E ( $APOE$ ) alellerinin hastalıkla güçlü ilişkisi vardır. Çok alanlı yaşam tarzına dayalı önleme denemeleri, demans riski artmış katılımcılarda bilişsel faydalar olduğunu göstermektedir. Yaşam tarzı faktörleri Alzheimer hastalığı patolojisini doğrudan etkilemez, ancak yine de Alzheimer hastalığı olan bireylerde olumlu bir sonuca katkıda bulunabilir. Umut vaat eden farmakolojik tedaviler, klinik denemelerin ileri aşamalarında yer almaktadır ve anti-amiloid  $\beta$ , anti-tau ve anti-inflamatuar stratejileri içermektedir (van der Flier ve ark., 2021).

### Alzheimer Hastalığının Patogenezi

AH patogenezi anlamaya yönelik araştırma alanı ve etkili tedaviler tasarlamak oldukça zordur. AH oldukça karmaşık ve ilerleyici bir nörodejeneratif hastalıktır. AH'nin bildirilen histopatolojik özellikleri,  $A\beta$  plaklarının hücre dışı

agregasyonları ve hiperfosforile mikrotübül ilişkili Tau proteininden oluşan nörofibriler yumakların (NFT'ler) hücre içi agregasyonlarıdır. A $\beta$  plakları başlangıçta beynin bazal, temporal ve orbitofrontal neokorteks bölgelerinde gelişir ve daha sonraki aşamalarda neokorteks, hipokampus, amigdala, diensefalon ve bazal ganglionlar boyunca ilerler. Kritik vakalarda, A $\beta$  mezensefalon, alt beyin sapı ve serebellar korteks boyunca da bulunur. Bu A $\beta$  konsantrasyonu, beynin locus coeruleus ve transentorhinal ve entorhinal bölgelerinde bulunan Tau-düğüm oluşumunu tetikler. Kritik aşamada hipokampus ve neokortekse yayılır. A $\beta$  ve NFT'ler hastalığın ilerlemesinde başlıca faktörler olarak kabul edilir (Tiwari ve ark., 2019).

### Alzheimer Hastalığında Biyomarker Proteinler

Biyobelirteçler, hastalığı değiştiren terapilerin geliştirilmesi için önem arz etmektedir. Nörodejeneratif hastalıklar için biyobelirteçlere, klinikte tanısıl çalışmaları iyileştirmek ve aynı zamanda etkili hastalık modifiye edici tedavilerin geliştirilmesini ve izlenmesini kolaylaştırmak için ihtiyaç duyulmaktadır. Yaşam tarzı faktörleri Alzheimer hastalığı patolojisini doğrudan etkilemez, ancak yine de Alzheimer hastalığı olan bireylerde olumlu bir sonuca katkıda bulunabilir. Farmakolojik tedaviler anti-amiloid  $\beta$ , anti-tau ve anti-inflamatuar stratejileri içeren klinik denemelerin ileri aşamalarındadır. Alzheimer hastalığında amiloid- $\beta$  ve tau patolojisini saptayan pozitron emisyon tomografisi (PET) yöntemleri, klinik çalışmaların ve gözlemsel çalışmaların tasarımını iyileştirmek için giderek daha fazla kullanılmaktadır. AH denemelerinde, A $\beta$ -PET veya tau-PET genellikle anti-A $\beta$  veya anti-tau tedavilerinin ilaç hedef etkileşimini belirlemek için uygundur. Yeni biyobelirteçler arasında, klinik ve araştırma kullanımı için büyük umut vadeden amiloid  $\beta$  ve fosforile tau için PET taramaları ve plazma testleri yer almaktadır. Son yıllarda, aynı Alzheimer hastalığı patolojilerini tespit eden, kolay erişilebilir ve uygun maliyetli kan bazlı biyobelirteçler geliştirilmiştir; bu da Alzheimer hastalığının tanısıl incelemesinde küresel çapta devrim yaratabilmektedir (van der Flier ve ark., 2021; Sun ve ark., 2023).

### Amyloid-beta (A $\beta$ ) Proteinini

AH patofizyolojisine ilişkin bazı tartışmalara rağmen, senil plaklar (SP'ler) ve nörofibriler yumaklar (NFT'ler) hala en önemli patolojik belirteçler olarak kabul edilmektedir. SP'ler esas olarak amiloid öncü proteininin (APP)  $\beta$ -sekretaz ve  $\gamma$ -sekretaz tarafından sırayla bölünmesinin bir yan ürünü olan amiloid- $\beta$  proteinlerinden (A $\beta$ ) oluşur. A $\beta$ 'nin düzenlenmesi tam olarak anlaşılammış olsa da, A $\beta$ 'nin aşırı üretiminin veya temizlenme işlemlerinin azalması A $\beta$ 'nin anormal birikimine önemli ölçüde katkıda bulunduğu inanılmaktadır. AH, amiloid plaklarında ağırlıklı olarak A $\beta$ 42 ve amiloid anjiyopatisinde A $\beta$ 40 formunda olmak üzere artan miktarda çözünür ve çözünmeyen amiloid- $\beta$  (A $\beta$ ) ile karakterizedir. Amiloid hipotezi, Alzheimer hastalığının A $\beta$  üretimi ve temizlenmesi arasındaki dengesizlikten kaynaklandığını ve bunun Merkezi Sinir Sistemi'nde monomer, oligomer, çözünmeyen fibriller ve plaklar gibi çeşitli formlarda artan miktarda A $\beta$  ile sonuçlandığını ileri sürmektedir. Daha sonra yüksek A $\beta$  seviyeleri nöronal hasar ve ölümle sonuçlanan ve Alzheimer tipi ilerleyici klinik bunama olarak ortaya çıkan bir olaylar dizisini başlatır (Sun ve ark., 2023).

A $\beta$ , birçok dokuda ifade edilen ve nöronal sinapslarda yoğunlaşan transmembran amiloid öncü proteininden (APP) türetilir. APP, A $\beta$ 'yi üretmek için  $\beta$ -APP parçalama enzimi (BACE1) ve ardından  $\gamma$ -sekretaz tarafından parçalanır. A $\beta$  peptidi,  $\gamma$ -sekretaz tarafından parçalanmaya bağlı olarak genellikle 37-43 amino asit içerir ve burada A $\beta$ 40 en yaygın izoformdur. Daha uzun izoformlar (A $\beta$ 42 ve A $\beta$ 43) kümeleşmeye eğilimlidir ve daha küçük kümeler (oligomerler) ve daha büyük çözünmeyen fibrilleri oluşturur. A $\beta$  fibrilleri AH'de bulunan hücre dışı plakların ana bileşenidir ve oligomerlerin oluşumunu katalize edebilirler. Amiloid öncü proteininin (APP) proteolitik parçalanması, A $\beta$  adı verilen küçük protein parçaları üretir. APP, C-terminali ve N-terminali nöronal hücrelerin fosfolipid çift katmanından geçen bir transmembran proteini olarak kabul edilir. APP aktive olduğunda, parçalanır ve oligomerlerin, fibrillerin ve plakların üretimiyle sonuçlanan bir dizi olaydan geçer ve

bunların tümü moleküler veya hücrel iletişim bozulmasına neden olur. İki sekretaz enzimi ( $\alpha$ -sekretaz ve  $\beta$ -sekretaz) öncelikle APP'nin A $\beta$ 'ye parçalanmasından sorumludur.  $\alpha$ -sekretaz, APP $\alpha$  alt birimini üreterek amiloidojenik olmayan yolu takip ederken,  $\beta$ -sekretaz APP $\beta$  alt birimini üreterek amiloidojenik yolu takip eder.  $\gamma$ -sekretaz tarafından daha fazla parçalanma,  $\beta$  alt birimi toksik A $\beta$ 42 agregatları üretir. Artan A $\beta$  agregasyonu, artan A $\beta$ 42/A $\beta$ 40 oranı, A $\beta$  birikimi ve azalan A $\beta$  klirensi gibi çeşitli faktörlerin hepsi beyinde senil plak oluşumuna katkıda bulunur. Bu plaklar ve fibriller öncelikle AH'nin ilerlemesinden sorumludur. Senil plak oluşumu, spesifik sekretaz inhibitörleri gibi klinik tedavilerin uygulanmasıyla durdurulabilir. Ayrıca, Presenilin'in (*PSEN 1* ve *PSEN 2*) genetik mutasyonu da yüksek A $\beta$  seviyesinden sorumludur. Hem *PSEN 1* hem de *PSEN 2* genleri sırasıyla Presenilin 1 ve 2'yi kodlar. Presenilin, APP'den türetilen proteinlerin parçalanmasını gerçekleştiren  $\gamma$ -sekretaz kompleksinin katalitik kısmıdır. Bu nedenle, A $\beta$  terapisine dayalı potansiyel yeni terapötik ilaçlar geliştirmek çok fazla sabır ve farklı alanlardan iş birliği gerektirir (Verma ve ark., 2022).

### Tau Proteini

Tau proteini, hücre bütünlüğünün korunmasına yardımcı olduğu için mikrotübül stabilitesinde önemli bir işlev görmektedir. Normal bir durumda aksonal membranda fosforile edilmiş formda bulunur. Yetişkinlerde, mikrotübül ilişkili protein Tau (*MAPT*) geninden alternatif mRNA splicing yoluyla altı tau izoformu ekspres edilir. Tau izoformu bileşiminin yanı sıra, translasyon sonrası modifikasyonlar hangi tau filament yapılarının oluştuğunu belirleyebilir. AH'de, prolin erişim bölgesinin fosforilasyonu da dahil olmak üzere belirli translasyon sonrası modifikasyonlar agregasyonu teşvik edebilir. Patolojik tau hücreden hücreye iletme uğrayabilir ve bu da alıcı hücredeki normal tau'nun yanlış katlanmış tau'ya dönüşmesi ve tau agregatlarının oluşumuyla sonuçlanabilir. *MAPT* genindeki mutasyonlar yaygın tau patolojisine neden olabilir ve bu da Pick hastalığı olarak adlandırılan frontotemporal demans (FTD) benzeri bunama, parkinsonizm ve/veya hafıza bozukluğuna neden

olabilmektedir. Tau proteinlerinin hiperfosforilasyonu mikrotübül instabilitesine neden olur Hiperfosforilasyondan sonra tau, çözünmeyen hücre içi nörofibriler yumaklar (NFT)'lere dönüşür ve nihayetinde nörodejenerasyona ve çözünmezliği nedeniyle, azalmış klirens göstermekte ve bu nedenle bilişsel bozukluğa yol açmaktadır (Verma ve ark., 2022). AH'da tau proteininin hiper-fosforilasyonunu içeren faktörler arasında nükleer faktör-kB (*NF-kB*), tümör nekroz faktörü-alfa (*TNF- $\alpha$* ) ve interleükinlerin (*ILs*) salınımı yer alır ve bunlar sonuçta beyinde nöritik hasara neden olur. Tau protein kinaz-1 (*TPK-1*), mikrotübül afinite düzenleyici kinaz (*MARK*), mitogenle aktive olan protein kinaz (*MAPK*), glikojen sentaz kinaz-3-beta (*GSK-3 $\beta$* ), AMP ile aktive olan protein kinaz (*AMPK*) ve çift özgülüklü tirozin fosforilasyonu ile düzenlenen kinaz 1A (*Dyrk1A*) gibi çeşitli kinazların aşırı aktivasyonu, tau'nun aşırı fosforilasyonu ile sonuçlanan bir dizi olaya neden olabilmektedir. Kinaz kaynaklı tau hiperfosforilasyonu, fosfatazların susturulmasıyla upregüle edilir. Sonuç olarak, araştırmacılar ve bilim insanları, NFT'lerin oluşumunu engellemek veya klirensini artırmak için yeni stratejiler tasarlamaya ve geliştirmeye çalışmaktadır (Verma ve ark., 2022).

### Alzheimer Hastalığında Genetik Mutasyonlar

İkizler üzerinde yapılan çalışmalar, Alzheimer hastalığı riskinin %60-80 oranında kalıtsal faktörlere bağlı olduğunu göstermiştir. Yaygın *APOE  $\epsilon$ 4* aleli bu riskin önemli bir kısmını açıklamaktadır, ancak Alzheimer hastalığının kalıtımsallığını tam olarak tanımlayamamaktadır (van der Flier ve ark., 2021). Amyloid precursor protein (APP), Presenilin-1 (*PSEN1*), Presenilin-2 (*PSEN2*) genlerindeki mutasyonların nadir görülen erken başlangıçlı AH formuna (EOAD) neden olduğu bilinmektedir. Bu genlerin hepsi A $\beta$  üretimi ile bağlantılı olsa da, birkaç varyant tutarlı bir şekilde A $\beta$  bozunması ile bağlantılıdır (Sun ve ark., 2023). Erken başlangıçlı otozomal dominant AH'e katılan 179 *PSEN1* ve 14 *PSEN2* gen mutasyonu mevcuttur. Bu mutasyonlar, hastalığın ilerlemesine katkıda bulunan plak oluşumunda ve indüklenen nörotoksitede doğrudan rolü olan A $\beta$ 40 ve A $\beta$ 42 gibi daha toksik amiloid formlarının üretimini destekler

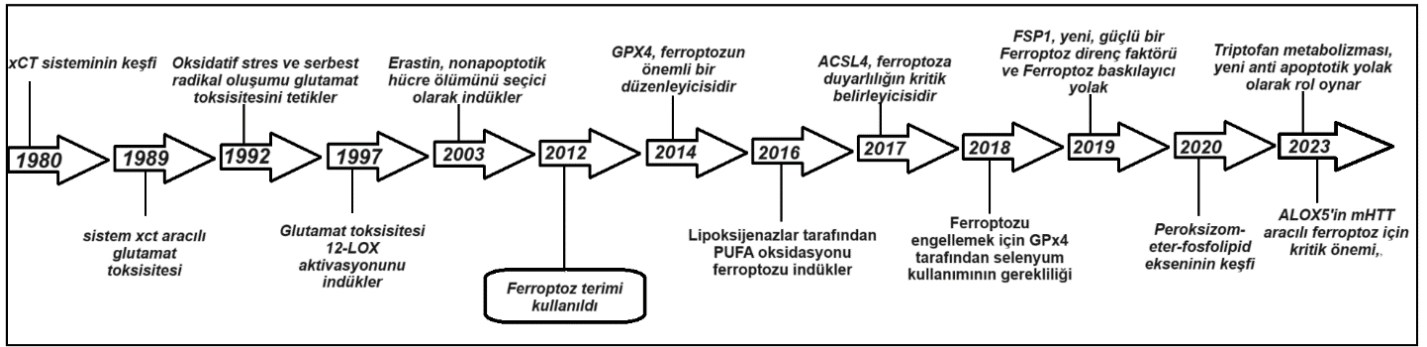
(Tiwari ve ark., 2019). Buna karşın, AH'nin en yaygın formu, bilinen mutasyonlar olmaksızın sporadik olarak ortaya çıkar ve patogenezi hala anlaşılammıştır. Sporadik AH'nin genetik varyantlar ve çevresel maruziyetin bir kombinasyonu tarafından belirlendiği düşünülmektedir. Bugüne kadar Genom Çapında İlişki Çalışmaları (GWAS) ve DNA dizileme teknolojisi ile apolipoprotein E (*APOE*), miyeloid hücrelerde ifade edilen tetikleyici reseptör 2 (*TREM2*), fosfolipaz D aile üyesi (*PLD3*), koloni uyarıcı faktör 1 reseptör (*CSF1R*), sortilin ilişkili reseptör 1 (*SORL1*) ve anjiyotensin dönüştürücü enzim (*ACE*) gibi sporadik AH ile ilişkili birkaç geni gösteren çok sayıda analiz yapılmıştır. Son zamanlarda, bazı çalışmalar nadir varyantların AH için duyarlılığı etkileyebileceğini göstermiştir ve neprilizin ve endotelin dönüştürücü enzim gibi Aβ yıkımı üzerindeki çeşitli enzimler hayvan modellerinde başarıyla değerlendirilmiştir (Sun ve ark., 2023).

### Hücre Ölüm Mekanizması Ferroptoz

Hücre ölümü, hücre fonksiyonunun durması ve nihayetinde hücre ölümü ile sonuçlanan biyolojik bir süreçtir. Ana işlevi, işlevsel olmayan, hasarlı ve zararlı hücreleri ortadan kaldırarak doku homeostazını korumaktır. Bu, doku oluşumu, korunması ve onarımında yer alan doğal bir süreç olmasına rağmen, yaralanma, hastalık veya hasara yanıt olarak da tetiklenebilir ve patolojik hücre ölümüne yol açabilir. Dahası, enfeksiyonlarla savaşmak için kritik öneme sahiptir; düzensiz veya işlevsiz hücre ölümü sinyalizasyonunun neden olduğu çok sayıda hastalıkla ilişkilidir. Sonuç olarak, hastalıkları tedavi etmek amacıyla hücre ölümünü modüle etmeye yönelik artan bir ilgi vardır. Şimdiye kadar apoptoz, nekroptoz ve piroptoz en iyi anlaşılabilir olmak üzere çeşitli hücre ölümü biçimleri tanımlanmıştır. Son yıllarda, farklı yollar arasında karşılıklı etkileşim ve destek mekanizmaları tanımlandıkça, hücre ölümü yöntemlerinin daha karmaşık bir tablosu ortaya çıkmıştır (Kist ve ark., 2021). Ferroptoz kavramı geliştirilmeden önce, ferroptoz indükleyicileri, RAS mutant tümör hücrelerine seçici olarak öldürücü bileşikler olarak keşfedilmiştir. 2003 yılında, erastinin insan sünnet derisi

fibroblastlarında (BJeLR hücreleri) tasarlanmış mutant Ras onkogeninin ekspresyonu ile öldürücü olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, sonraki çalışmalar erastinin neden olduğu hücre ölümü için yeterli hedefleri tanımlayamamıştır. Ras-seçici öldürücü küçük molekül (*RSL*)-3 ve *RSL5* daha sonra 2008 yılında *BJeLR* hücrelerini apoptotik olmayan bir şekilde seçici olarak öldüren sentetik bileşikler olarak tanımlanmıştır. 2012 yılına kadar hücre ölüm şekli ferroptoz olarak adlandırılmamış ve erastinin sistin/glutamat antiporter (*XCT/Xc-* sistemi) tarafından sistin alımını inhibe ederek hücre ölümüne yol açtığı bulunmuştur (Yan ve ark., 2021). Lipid peroksidlerin ölümcül birikimiyle sonuçlanan düzenleyici redoks mekanizmalarının koordinasyon bozukluğuyla tetiklenen, demire bağımlı bir hücre ölüm biçimi olan ferroptoz terimi, 2012 yılında ortaya atılmıştır (Dixon ve ark., 2012).

Ferroptoz, hücresele glutatyon (GSH) bağımlı antioksidan savunmaların inaktivasyonu ile tetiklenmekte ve toksik lipid ROS (L-ROS) birikimine yol açmaktadır. Bu süreç son zamanlarda yüksek düzeyde glutamata (Glu) maruz kalan beyin dokularının yanı sıra iskemi-reperfüzyon hasarına maruz kalan böbrek ve kalp dokularının patolojik hücre ölümüyle ilişkilendirilmiştir. Kanser bağlamında ise ferroptoz, p53' ün aşağı akışında endojen bir tümör baskılayıcı mekanizma olarak hareket edebilir. RAS-RAF-MEK yolağında mutasyonları olan kanser hücrelerini seçici olarak ortadan kaldırmak için ferroptozun küçük molekülü aktivatörlerini kullanmak mümkün olsa da tartışmalıdır. Bu nedenle, bu hücre ölümü yolağının nasıl düzenlendiğini anlamak büyük önem taşımaktadır (Cao ve ark., 2016).



**Fig.1** Ferroptoz alanındaki önemli keşifleri gösteren zaman çizelgesi diyagramı (Yan ve ark., 2021'den modifiye edilmiştir.)

### Ferroptozda Xc- Sistemi

Sistin ve glutamat aminoasitlerinin sodyum iyonundan bağımsız bir şekilde hücrelere alındığı görülmüştür. Çeşitli aminoasitler kullanılarak yapılan inhibisyon çalışmaları, alım sisteminin özgüllüğü hakkında bilgi sağlayarak L-sistin veya L-glutamat alım sisteminin birbirlerine çok benzer substrat özgüllüğü sergilediği gösterilmiştir. L-sistin veya L-glutamatın hücreler tarafından metabolik dönüşümü incelenerek L-glutamat hücrelerden değişmeden geri kazanılırken, L-sistin çok hızlı bir şekilde L-sisteine, glutatyona ve glutatyon ile L-sisteinin karışık disülfidine dönüştürülmüştür. Bununla birlikte, L-glutamatın L-sistin metabolizmasını bozmadan L-sistin alımını engellediği bulunmuştur. Bu sonuçlar, L-sistin veya L-glutamatın büyük kısmının ortak bir taşıyıcı sistem aracılığıyla insan fibroblastlarına taşındığını gösteren sistin/glutamat antiporter (Xc- sistemi) ortaya konmuştur (Bannai ve ark., 1980). Xc- sistemi aracılığıyla, glutamatın indüklediği sitotoksitenin, sistin alımını inhibe etme kabiliyetiyle doğru orantılı olduğu bulunmuştur. Glutamata (veya düşük sistine) maruz kalmanın glutatyon seviyelerinde düşüşe ve hücre içi peroksitlerin birikmesine neden olduğu gözlenmiştir. N18-RE-105 hücreleri gibi, kültürdeki birincil sıçan hipokampal nöronlarının (glia değil) düşük sistin konsantrasyonlu ortamda dejenere olduğu dolayısıyla, N18-RE-105 hücrelerinde glutamat kaynaklı sitotoksitenin, sistin alımının engellenmesinden kaynaklandığı, buna bağlı olarak da oksidatif strese ve hücre ölümüne yol açtığı bildirilmiştir (Murphy ve ark., 1989). Glutamat ayrıca inme, epilepsi ve diğer merkezi sinir sistemi hasarı durumlarında sinir hücresi

ölümünün başlatılmasıyla da ilişkilendirilmiştir. Temel fibroblast GF (bFGF) gibi bazı büyüme faktörleri (GF'ler) merkezi sinir sisteminde büyük miktarlarda sentezlendiğinden ve GF'ler arasında birçok sinerjik etkileşim olduğundan uyarıcı amino asit glutamat ile bu proteinler arasında spesifik etkileşimler olduğu ve PC-12 hücrelerinin glutamat tarafından öldürüldüğü ve bu ölümün bazı GF'ler ve E vitamini tarafından değiştirildiği belirtilmiştir. Bu nedenle antioksidan desteğinin glutamat toksisitesi üzerine kritik roller oynayabileceği ve antioksidanların bu toksisiteyi hafifletebileceği gösterilmiştir. E vitamini, PC-12 hücrelerini glutamat toksisitesinden kısmen koruyabilmiştir. Diğer klonal sinir hücresi hatlarının glutamat kaynaklı ölümü bu E vitamini konsantrasyonu tarafından tamamen engellenmiştir. Dolayısıyla, glutamatın, PC-12 hücrelerini öldürdüğü en az bir mekanizma oksidatif stres ve serbest radikal oluşumunu içermektedir (Schubert ve ark., 1992).

Glutamat, sistin alımını inhibe ederek glutatyon sentezinde (GSH) bir azalmaya ve hücrenin reaktif oksijen türleriyle (ROS) başa çıkamamasına neden olarak hücre ölümüne yol açar. Oksidatif glutamat toksisitesi ise daha önce bahsettiğimiz gibi E vitamin ve büyüme faktörleri gibi antioksidanlar tarafından hafifletilir. Olgunlaşmamış kortikal nöronlar ve klonal bir sinir hücresi hattı kullanılarak, glutatyondaki (GSH) azalmanın nöronal 12-lipoksijenazın (12-LOX) aktivasyonunu indüklediği, bunun da peroksit üretimine, Ca<sup>2+</sup> akışına ve buna bağlı olarak hücre ölümüne yol açtığı gösterilmiştir (Yan ve ark., 2021).

### Bazı Ferroptoz İndükleyicileri ve İnhibitörleri

Erastin, 2003 yılında genotip seçici bir antikanser ajanı olarak ilk kez keşfedilmiştir Dolma ve ark. (2003), Erastin, ferroptozu birden fazla yolla indükler, bunlardan biri de Voltaja bağlı anyon kanalları (VDAC) hedef alarak yapmasıdır (Yagoda ve ark., 2007). VDAC'ların üç izoformu vardır ve VDAC2 ve VDAC3'ün knockdown edilmesi, ilgili hücrelerde erastine karşı dirençle sonuçlanmıştır. Erastin, VDAC2 ile doğrudan bağlanarak lipid ROS üretimini başlatmaktadır. Erastin, glutamat gibi, sistin/glutamat antiporter sistem (sistem xC-) tarafından sistin alınımı inhibe ederek hücrenin antioksidan savunmasında bir boşluk yaratmakta ve bunun sonucunda demire bağlı, oksidatif ölüme yol açmaktadır. Bu nedenle, ferroptozun aktivasyonu bazı kanser hücrelerinin apoptotik olmayan yıkımıyla sonuçlanırken, bu sürecin engellenmesi ise organizmaları nörodejenerasyondan koruyabilir (Dixon ve ark., 2012). Erastin, seçici ferroptozu indükleyerek hem indirgenmiş glutatyonu (GSH) hem de oksitlenmiş glutatyonu (GSSG) önemli ölçüde tüketmiştir. GSH/GSSG'nin önemli ölçüde azalması, erastinin ROS oluşumunu indükleyerek oksidatif hücre ölümüne neden olduğu gerçeğiyle tutarlı bulunmuştur. GSH/GSSG önemli bir hücre antioksidan sistemi oluşturur ve oksidatif türleri ortadan kaldırmak için indirgeyici eşdeğerler sağlar. Üç hücre hattı erastin ile muamele edildiğinde, erastinin doza bağlı, GSH tüketen etkisi doğrulanmıştır. Kültür ortamının GSH veya GSH'nin biyosentetik bir öncüsü olan N-asetilsistein (NAC) ile desteklenmesi de erastin kaynaklı hücre ölümünü önlediğinden, erastin tarafından GSH tükenmesinin erastinin ölümcüllüğü için gerekli olduğu bulunmuştur. GSH tükenmesinin bir sonucunun glutatyonla bağlı peroksidazların (GPX'ler) inaktivasyonu olabileceği düşünülmüştür. GSH tüketen reaktiflerle (erastin gibi) muamele edilen hücrelerden alınan lizatlar analiz edildiğinde, NADPH oksidasyonu önlenmiş, bu da GSH tükenmesi üzerine GPX'lerin inaktive edildiğini göstermiştir. Bu veriler birlikte ele alındığında, erastinin hücre GPX'leri inaktive ederek sitoplazmik ve lipid ROS oluşumuna yol açtığını göstermektedir. Erastin dışında, benzer etkiye sahip

başka bir bileşik olan RAS sentetik letal 5 (*RSL5*) *VDAC3* ile bağlanarak ferroptozu indükler. Ayrıca, VDAC'lar, mitokondriyal anyon kanallarının küçük moleküler allosterik blokörü olan 4,4'-diizotiyosiyano-2,2'-disülfonik asit (*DIDS*) tarafından da inhibe edilebilir. VDAC'ların bloke edilmesi, hücre duyarlılığı iyonize radyasyona karşı artırır ve DNA hasarının onarımını engeller. Bu nedenle, *DIDS*'in kanser tedavisinde radyoterapinin etkinliğini artırdığı gösterilmiştir (Skonieczna ve ark., 2017).

Hücredeki demir seviyesi, bir diğer önemli göstergedir. Divalent metal taşıyıcı 1 (*DMT1*), hücre içi demir seviyesi ve demir homeostazı ile ilişkilidir. Yeni bir araştırma, glioblastom tedavisinde kullanılan bir antikanser ilacı olan temozolomidin (*TMZ*), *DMT1*'i artırarak ferroptozu indükleyebileceğini göstermiştir (Song ve ark., 2021). *MMR162* adı verilen başka bir küçük molekül, daha yeni keşfedilen bir indükleyici olup, ferritin ağır zincirinin degradasyonunu indüklediği bildirilmektedir (Li ve ark., 2022). Ferroptoz, alternatif olarak lipid metabolizmasını etkileyerek ve doğrudan lipid ROS üretimi yaparak indüklenebilir. Hepatoselüler karsinom tedavisi bağlamında, FDA onaylı bir antikanser ilacı olan sorafenib, uzun zincirli açil-koenzim A sentezleyicisi ailesi üyesi asil-CoA sentetaz 4 (*ACSL4*) varlığında ferroptozu indükleyebilir (Feng ve ark., 2021). Özellikle, sorafenib eklenmesi, hücrelerde lipid ROS üretim metabolik yolunu doğrudan etkiler. Spesifik olarak, *Gpx4-Acsl4* çift nakavt hücreleri, ferroptozu karşı belirgin bir direnç göstermiştir. *ACSL4*, hücre membranları uzun çoklu doymamış ω6 yağ asitleriyle zenginleştirmiştir. Ayrıca bazal benzeri meme kanseri hücre hatlarından oluşan bir panelde tercihen *ACSL4*, eksprese edilmiş ve bu hücre hatlarının ferroptozu duyarlılığını tahmin etmiştir. *ACSL4*'ün bir antidiyabetik bileşik sınıfı olan tiyazolidindionlar ile farmakolojik olarak hedeflenmesi ise, ferroptozun bir fare modelinde doku ölümünü iyileştirmiş ki bu, *ACSL4* inhibisyonunun, ferroptoz ile ilişkili hastalıkların önlenmesinde uygulanabilir bir terapötik yaklaşım olduğunu ortaya koymuştur (Doll ve ark., 2017). Lipid ROS seviyelerini doğrudan etkileyen bir diğer indükleyici ise tersiyer bütül

hidroperoksit (t-BuOOH) olup, uygulandığında oksidatif stres, anormal mitokondriyal zar potansiyeli ve DNA hasarına yol açabilir. Ancak, mitokondriyal zar potansiyelinin çökmesi hücre ölümünün asıl nedeni değildir. Daha yakın zamanlarda ferroptozun bir indükleyicisi olarak rapor edilen t-BuOOH, kardiyolipinlerin oksidasyonu yoluyla işlev görür ve bu oksidasyon, kardiyolipin oksidasyonunun inhibitörleri, örneğin XJB-5-131 ve JP4-039 ile tersine çevrilebilir. t-BuOOH tarafından tetiklenen hücre ölümü, hippo yolu aracılığıyla hücreler arası bağlantılarla da kurtarılabilir (Wenz ve ark., 2019).

Ferroptoz indükleyicilerin geliştirilmesi, tümör tedavisinde büyük bir değere sahipken ferroptoz inhibe ediciler de tümör immünoterapisi ve inme gibi diğer hastalıkların tedavisinde de kullanılabilir (Alim ve ark., 2019). Aşırı demir iyonlarının ortadan kaldırılması, ferroptozu inhibe etmenin doğrudan bir yoludur. Örneğin, siklopiroks olamin (CPX), demir şelatörü olarak rapor edilmiştir ve aynı zamanda geniş spektrumlu antifungal ve antibakteriyel etkinliğe sahiptir (Dixon ve ark., 2012). Demir iyonlarını şelatlayarak ferroptozu inhibe etmenin yanı sıra, olamin tuzu olan CPX (CPX-O), polikistik böbrek hastalığı olan farelerde ferritin degradasyonunu indüklediği kanıtlanmıştır (Radadiye ve ark., 2021). Deferoksamin (DFO), başka bir yaygın kullanılan demir şelatörüdür (Dixon ve ark., 2012) ve travmatik omurilik yaralanmasında tedavi edici bir etkiye sahip olarak ferroptozu inhibe etmek için kullanıldığı bildirilmiştir. CPX ve DFO dışında, deferipron (DFP) ve deferasiroks (DFX) gibi birçok başka demir şelatörü de rapor edilmiştir (Zheng ve ark., 2021).

Ferostatin-1 (*Fer-1*), 2012 yılında Dixon ve arkadaşları tarafından bir ferroptoz inhibitörü olarak tanımlanmış ve HT-1080 hücrelerinde *RSL3* veya erastin ile indüklenen ferroptozu inhibe ettiği kanıtlanmıştır. *Fer-1*'in, birincil aromatik amine sayesinde lipid peroksidasyonunu inhibe ederek işlev gösterdiği gösterilmiştir (Dixon ve ark., 2012). *RSL3* veya erastin tarafından indüklenen ferroptozu inhibe etmenin yanı sıra, bazı çalışmalar *Fer-1*'in

oligodendrositlerde ferroptozu inhibe etmek için GSH seviyesini artırabileceğini göstermektedir (Skouta ve ark., 2014). Başka yaygın olarak kullanılan etkili bir lipid antioksidanı liproksstatin-1'dir. *Fer-1* gibi, liproksstatin-1 de erastin dahil olmak üzere birçok inhibitörü inhibe edebilir. Ayrıca, GPX4 yokluğunda hücreleri ferroptozdan koruyabilir (Friedmann Angeli ve ark., 2014). Buna ek olarak,  $\alpha$ -tokoferol (Vitamin E) ve *Fer-1* analogları olan SRS15-72B, SRS15-72A, SRS16-80 ve SRS16-86 benzer işlevlere sahiptir, ancak farklı etkiler ve stabilitelere sahiptirler. Ayrıca, yakın bir raporda vitamin K (VK)'nın karşılık gelen hidrokinon formuna (VKH2) dönüşebileceği ve bu sürecin *FSP1* tarafından katalize edilebileceği gösterilmiştir. VKH2, VK'nın tamamen indirgenmiş formu olup, lipid oksidasyonunu inhibe etme yeteneğine sahiptir ve ferroptozun inhibisyonunda işlev görür (Du ve Guo, 2022).

### Ferroptozda Glutatyona Bağlı Peroksidaz 4 (GPX4) 'ün Rolü

*GPX4*'ün, lipoksijenaz aracılı lipid peroksidasyonunu baskılayarak ferroptozu karşı korumada çok önemli bir rol oynadığı, *GPX4*'ün aşırı ekspresyonunun ve nakavt edilmesinin 12 ferroptoz indükleyicisinin öldürücü etkisini modüle ettiğini ve *GPX4*'ün ferroptotik kanser hücresi ölümünün önemli bir düzenleyicisi olduğu öne sürülmüştür (Yang ve ark., 2014). *GPX4*'ün küçük moleküllü inhibitörleri ise ferroptozu indükler; ancak bu inhibitörler ile *GPX4* arasındaki etkileşim ve ferroptozun gerçekleşmesini sağlayan reaktif oksijen türlerinin benzerliği belirsiz kalmıştır. Bu amaçla, *GPX4*'te bir ligand bağlanma bölgesi, ferroptoz sırasında oksitlenen spesifik lipitler ve ferroptoz sırasında lipit peroksidasyonunun iki temel etkeni de (lipoksijenazlar ve fosforilaz kinaz G2) belirlenmiştir. Lipid peroksidasyon mekanizması, lipoksijenaz enzimlerine demir mevcudiyetinin fosforilaz kinaz G2 (*PHKG2*) düzenlenmesini içermektedir; bu da bis-allilik pozisyonda çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA'lar) peroksidasyonu yoluyla ferroptozu yönlendirir; aslında, peroksidasyon bölgesinde (D-PUFA) ağır hidrojen izotop döteryum içeren PUFA'larla hücrelerin ön işleme tabi



tutulması, PUFA oksidasyonunu önleyerek ferroptozu bloke etmektedir. Ayrıca ferroptoz indükleyiciler, aktif bölge selenosisteinini kovalent olarak hedefleyerek *GPX4*'ü inhibe ederek PUFA hidroperoksitlerin birikmesine yol açmıştır. Özetle, ferroptoz için *PHKG2*'ye bağımlı bir demir havuzu yoluyla lipoksijenazlar tarafından PUFA oksidasyonunun gerekli olduğu ve *GPX4*'te katalitik selenosisteinin kovalent inhibisyonunun PUFA hidroperoksitlerin eliminasyonunu önlediği bulunmuştur. Bu bulgular, farklı bağlamlarda ferroptozu kontrol altına almak amacıyla yeni stratejiler sunmuştur (Yang ve ark., 2016). Duyarlılığı ve/veya direnci tahmin edebilecek ve ferroptozu modüle etmek için kullanılacak mekanizmalara ihtiyaç duyulmuştur.

*GPX4* tarafından selenosistein kullanımının, peroksit kaynaklı ferroptozu karşı oldukça duyarlı olması nedeniyle geri dönüşü olmayan aşırı oksidasyona karşı mükemmel bir direnç sağladığı ve ferroptozu engellemek için *Gpx4* tarafından selenyum kullanımının gerekliliği ortaya konmuştur (Ingold ve ark., 2018). Daha önce de bahsedildiği gibi *GPX4*'ün inhibisyonu aracılığıyla ferroptozun indüklenmesi, kanser hücresi ölümünü tetiklemek için terapötik bir strateji olarak ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte, *GPX4* inhibitörlerine duyarlılık, kanser hücre hatları arasında büyük ölçüde değişiklik göstermektedir; bu, ferroptozu karşı direncin başka faktörlere bağlı olduğunu düşündürmüştü ve CRISPR-Cas9 taraması sonucunda ferroptoz baskılayıcı protein 1 (*FSP1*) güçlü bir ferroptoz direnç faktörü olarak tanımlanmıştır.

### Ferroptozda Aminoasit Metabolizması

Hayati faaliyetlerin vazgeçilmez substratları olan amino asitler (AA), ferroptozu önemli ölçüde düzenler. Amino asit metabolizması, demir ve lipid homeostazının yanı sıra redoks dengesinin korunmasında da rol oynar. Amino asitlerin ferroptoz üzerindeki düzenleyici etkileri karmaşıktır. Bir amino asit, bağlama göre ferroptoz üzerinde zıt etkiler gösterebilir. Nükleotitler, glukozamin ve GSH gibi çeşitli biyomoleküllerin sentezi, AA'lerin katılımını gerektirir. AA metabolizması, bir karbon metabolizması (OCM), üre siklusu

ve trikarboksilik asit (TCA) siklusu ile ilişkilidir. Rapamisin hedefi olan memeli (mTOR) veya NFE2 benzeri bZIP transkripsiyon faktörü 2 (*NFE2L2/NRF2*) ve AA metabolizması, bir dizi biyokimyasal ağ üzerinden karşılıklı olarak birbirini düzenler. AA metabolizmasını hedefleyerek ferroptozu düzenlemek ve çeşitli hastalıkları tedavi etmek, prelinik ve klinik çalışmalarda kullanılmaktadır (Yao ve ark., 2024).

Miristoyilasyon (genellikle bir proteinin N-terminaline (başlangıç kısmına) miristik asit molekülünün bağlanması), *FSP1*'i plazma zarına alarak burada lipofil peroksitlerin çoğalmasını durduran lipofilik radikal yakalayıcı bir antioksidan görevi gören koenzim Q10'u (*CoQ*) (ubikinon-10 olarak da bilinir) azaltan bir oksidoredüktaz olarak işlev görmüştür. Sonuç olarak *FSP1*, kanonik glutatyon bazlı *GPX4* yoluna paralel olarak hareket eden mitokondriyal olmayan *CoQ* antioksidan sisteminin önemli bir bileşeni olarak tanımlanmıştır. Elde edilen bu bulgular bir ferroptoz baskılama yolağını tanımlamakta ve *FSP1*'in farmakolojik inhibisyonunun, kanser hücrelerini ferroptoz indükleyen kemoterapötik ajanlara karşı duyarlı hale getirmek amacıyla etkili bir strateji sağlayabileceğini göstermiştir. Genom çapında CRISPR-Cas9 baskılayıcı taramalar yoluyla ferroptoz duyarlılığı geni üzerine yapılan başka bir çalışmada, oksidatif organel peroksizomlarının, kanser hücrelerinin kaçmasına yardımcı olduğu ve çoklu doymamış eter fosfolipitleri (PUFA-ePL) sentezleyerek ferroptozu duyarlılığı arttırdığı bildirilmiştir (Zou ve ark., 2020).

Ortaya çıkan kanıtlar, amino asit metabolizmasının ferroptotik hücre ölümünde önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. Metiyoninin sisteine dönüşümünün, tümör hücrelerini, transaminasyon yoluyla sistein açlığı durumunda ferroptozdan koruduğu iyi bilinmektedir. Ancak, amino asitlerin ürettiği metabolitlerin, sistein yolağından bağımsız olarak ferroptozu katılıp katılmadığı büyük ölçüde bilinmemektedir. Triptofan metabolitleri serotonin (5-HT) ve 3-hidroksiantranilik asidin (3-HA), tümör hücrelerinin sistein aracılı ferroptoz inhibisyonundan farklı olarak ferroptozdan

kaçışını önemli ölçüde kolaylaştırmıştır. Hem 5-HT hem de 3-HA, lipid peroksidasyonunu ortadan kaldırmak amacıyla güçlü radikal yakalayıcı antioksidan (RTA) görevi görmüş ve böylece ferroptotik hücre ölümünü engellemiştir. Sonuç olarak triptofan metabolizmasının, tümör büyümesini desteklemek amacıyla yeni bir anti-ferroptotik yolak olarak çalıştığı ve bu yolağı hedeflemenin tedavi için umut verici bir terapötik yaklaşım olacağı rapor edilmiştir (Liu ve ark., 2023).

RNA interferaz (RNAi) aracılı tarama kullanılarak *ALOX5*, mutant Huntingtinin genişletilmiş poliglutamini (*HTTQ94*) tarafından indüklenen *ACSL4*'ten bağımsız ferroptoz için gerekli olan ana faktör olarak tanımlanmıştır. *ALOX5* ekspresyon kaybının, reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu stres üzerine *HTTQ94* aracılı ferroptozu ortadan kaldırdığı ve yüksek seviyelerde glutamat üzerine nöronal hücrelerde *HTTQ94* aracılı ferroptoz için de gerekli olduğu gösterilmiştir. *HTTQ94*, *ALOX5* aracılı lipoksijenaz aktivitesinin temel bir kofaktörü olan FLAP'ı stabilize ederek *ALOX5* aracılı ferroptozu aktive etmektedir. Özellikle *Alox5* geninin susturulması, Huntingtonlu (HD) farelerin striatal nöronlarındaki ferroptoz aktivitesini ortadan kaldırmış; daha da önemlisi, *ALOX5* kaybının patolojik fenotipleri önemli ölçüde iyileştirdiği ve bu HD farelerin ömrünü uzattığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar *ALOX5*'in mHTT aracılı ferroptoz için kritik rolü olduğu ve *ALOX5*'in Huntington hastalığı için potansiyel yeni bir hedef olduğu rapor edilmiştir (Song ve ark., 2023).

### Ferroptozun Moleküler Mekanizması

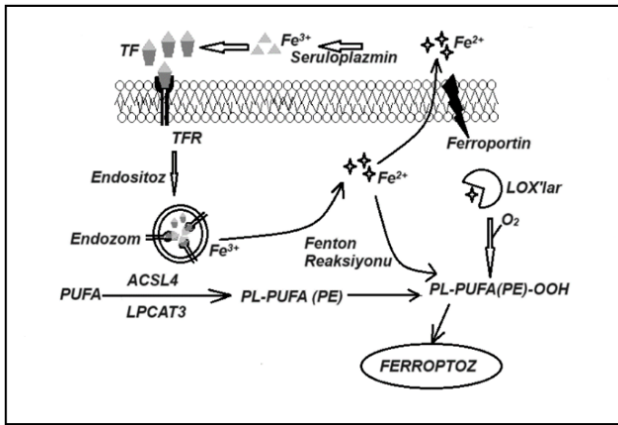
Çoğu araştırmacı, ferroptoz geçiren hücrelerin genellikle nekroz benzeri morfolojik değişiklikler gösterdiği konusunda hemfikirdir. Bu özellikler arasında plazma membran bütünlüğünün yitilmesi, sitoplazmik şişme (onkoz), sitoplazmik organellerin şişmesi ve orta derecede kromatin yoğunlaşması yer almaktadır. Bazı vakalarda, ferroptoz hücrelerin ayrılması ve yuvarlanmasının yanı sıra artan otofagozomlar da eşlik eder. Bir hücrede meydana gelen ferroptozun hızlı yayılan bir dalga halinde komşu hücrelere yayılabileceği bildirilmiştir. Ultrastrüktürel düzeyde,

ferroptotik hücreler genellikle yoğunlaşma veya şişme, artmış membran yoğunluğu, azalmış veya hiç olmayan krista ve dış membranın yırtılması gibi mitokondriyal anormallikler sergiler. Mitokondriyal morfolojideki bu önemli değişikliklere rağmen, bu organellerin ferroptozdaki rolü tartışmalı olmaya devam etmektedir. Mitokondri aracılı ROS üretiminin ferroptoz için gerekli olmadığını gösteren önceki bir çalışma ile çelişen, daha yeni kanıtlar, mitokondri aracılı ROS üretimi, DNA stresi ve metabolik yeniden programlamanın lipid peroksidasyonu ve ferroptoz indüksiyonu için gerekli olduğunu göstermektedir. Ferroptoz, demir birikimi ve lipid peroksidasyonu olmak üzere iki ana biyokimyasal özellik ile ilişkili ROS'a bağlı bir hücre ölümü şeklindedir (Tang ve ark 2021).

### Ferroptozda Demir Birikimi ve Metabolizmasının Rolü

Canlı organizmalar için hayati önem taşıyan demir, sistemik ve hücrel oksijen taşınması, biyoenerjetik reaksiyonlar ve enzim katalizi dahil olmak üzere birçok önemli fizyolojik süreçte kullanılır. Demirin sayısız katalitik reaksiyonda çok yönlü kullanımı, redoks döngüsü yeteneğinden kaynaklanmaktadır. Kimyasal açıdan bakıldığında, demirin oksidasyon durumu -2 ile +7 arasında değişebilir. Ancak biyolojik sistemler çoğunlukla 2+ [demir, Fe(II)] ve 3+ [ferrik, Fe(III)] redoks durumlarını kullanır. Elektron kabul etme ve verme kapasitesiyle demir, demir [Fe(II)] ve ferrik [Fe(III)] formları arasında döngü yaparak hem olmayan ve hem içeren birçok enzimin düzgün çalışmasını sağlar. Bu özellik aynı zamanda demirin Fenton reaksiyonuna katılmasını sağlar:  $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO\cdot + HO^-$ , difüzyon kontrollü hızlarda lipitler de dahil olmak üzere herhangi bir biyomoleküle ayırım gözetmeksizin saldırabilen hidroksil radikali (HO $\cdot$ ) üretir. Bu reaksiyon çözüldüğüde iyi bir şekilde karakterize edilmiş olsa da, hücre ve dokulardaki rolü daha az belirgindir ve yalnızca aşırı demir yükü durumlarda veya yüksek düzeyde koordinasyonsuz demir metabolizmasının diğer patolojik durumlarıyla ilgili olabilir. Normal koşullar altında, redoks-aktif demirin mevcudiyeti hem sistemik hem

de hücre içi olarak sıkı bir şekilde kontrol edilir. Ancak demir, PUFA içeren fosfolipidlerin peroksidasyonunu katalize ederek ferroptozda önemli bir role sahiptir. Hem lipoksijenazlar (LOX) gibi hem olmayan demir proteinlerinin katalitik merkezlerindeki demir hem de sitozolik kararsız demir havuzundaki (LIP) demir, ferroptozda fosfolipid hidroperoksitlerin oluşumunda rol oynar (Bayır ve ark., 2023). Bağırsak emilimi veya eritrosit yıkımı ile oluşan  $Fe^{2+}$ , seruloplazmin tarafından  $Fe^{3+}$ 'e oksitlenebilir, bu da hücre zarındaki transferrine (TF) bağlanarak TF- $Fe^{3+}$  oluşturur ve bu kompleksi endositoz için membran proteini TF reseptörü 1 (TFR1) aracılığıyla bir kompleks oluşturur.  $Fe^{3+}$  daha sonra prostatin altı-transmembran epitelyal antijeni 3 (STEAP3) tarafından  $Fe^{2+}$  'ye indirgenir ve  $Fe^{2+}$  daha sonra iki değerli metal taşıyıcı 1 (DMT1) veya Çinko-Demir düzenleyici protein ailesi 8/14 (ZIP8/14) aracılığı ile kararsız demir havuzunda (LIP) ve ferritinde depolanır. Fazla  $Fe^{2+}$ , ferroportin (FPN) tarafından  $Fe^{3+}$  'e oksitlenir. İç demirin bu geri dönüşümü, hücrelerdeki demir homeostazını sıkı bir şekilde kontrol eder (Şekil 2).



**Fig 2.** Ferroptozda demir metabolizması (Li ve ark., 2020'den modifiye edilmiştir.)

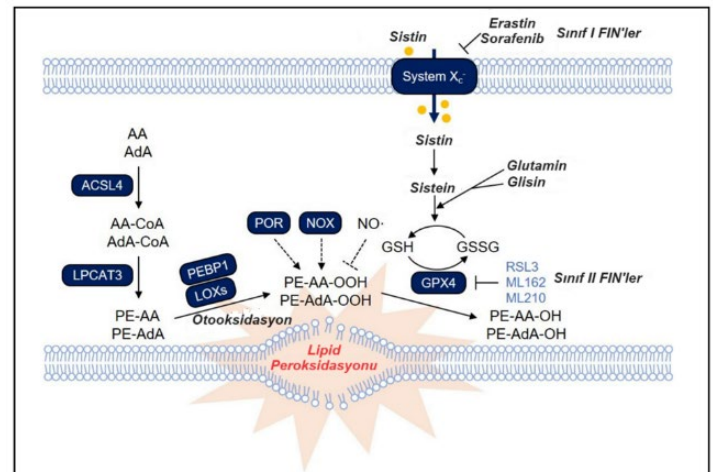
TFR1'i kodlayan gen olan TFRC'nin susturulması erastin ile indüklenen ferroptozu inhibe edebilirken, heme oksijenaz-1 (HO-1) demir takviyesi yaparak erastin ile indüklenen ferroptozu hızlandırabilir. Isı şok proteini beta-1'in (HSPB1) TRF1 ekspresyonunu inhibe ederek hücre içi demir konsantrasyonlarını daha da azaltabileceği ve bu nedenle aşırı eksprese edilen HSPB1'in ferroptozu önemli ölçüde

inhibe edebileceği bulunmuştur. Ayrıca ferritin, ferritin hafif zincir (FTL) ve ferritin ağır zincir 1'den (FTH1) oluşur. Demir metabolizmasının ana transkripsiyon faktörü olan demir yanıt elemanı bağlayıcı protein 2'nin (IREB2) ekspresyonunun inhibe edilmesi, FTL ve FTH1 ekspresyonunu önemli ölçüde artırabilir ve böylece erastin tarafından indüklenen ferroptozu inhibe edebilir (Li ve ark., 2020).

## Ferroptozda Lipid Peroksidasyon

### Mekanizmasının Rolü

Peroksil radikallerinin oluşumuyla lipid hidroperoksitler üretmek için oksijenin lipidlerle birleştiği süreç lipid peroksidasyonu olarak tanımlanmaktadır. Ferroptozun seçici olarak tercihen araşidonik asit (AA) gibi fosfatidiletanolamin içeren spesifik çoklu doymamış yağ asitlerini (PUFA'lar) oksitleyerek lipid peroksidasyonuna ve ferroptozu açtığı doğrulanmıştır. Yakın zamanda yapılan bir çalışma, AA-OOH-PE'nin ferroptozu indüklediğini göstermiştir. Bu süreçte, AA-CoA oluşumu asil-CoA sentetaz uzun zincirli aile 4 (ACSL4) tarafından katalize edilir. Ardından, lizofosfatidilkolin açıltransferaz 3 (LPCAT3) bunu AA-PE'ye esterleştirir ve bu da lipoksijenazlar (LOXs) tarafından AA-OOH-PE'ye oksitlenir. AA-OOH-PE içeriği indirgeme sisteminin kapasitesini aştığında, ferroptoz meydana gelecektir (Bai ve ark., 2020).



**Fig 3.** Ferroptoz sinyali yolu.

Membran fosfolipidlerindeki çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar) lipid peroksidasyonuna uğrayarak hücrel membranı doğrudan tahrip eder ve böylece ferroptoz yoluyla nekrotik hücre ölümüne neden olur. Glutasyon Peroksidaz 4 (GPX4), glutasyonu (GSH) oksitleyerek lipid peroksidi lipid alkole indirger ve böylece hücreleri normal koşullar altında ferroptozdan korur. GPX4'ün inaktivasyonu veya GSH'nin tükenmesi bu nedenle büyük lipid peroksidasyonuna yol açar ve ferroptozu indükler. Ferroptozu indükleyen bileşikler (FIN'ler) iki ana gruba ayrılır: xc- sistemini inhibe ederek GSH seviyelerini düşürenler (sınıf I FIN'ler) ve GPX4'ü doğrudan inhibe edenler (sınıf II FIN'ler). Çeşitli membran fosfolipidleri arasında araşidonik asit (AA) ve adrenik asit (AdA) içeren fosfatidiletanolamin (PE) ve fosfatidilkolin (PC) lipid peroksidasyonu için birincil hedeflerdir. Asil-KoA sentetaz uzun zincirli aile üyesi 4 (ACSL4) serbest PUFA'ları CoA'ya bağlayarak yağ asil-CoA esterleri oluşturur ve bunlar lizofosfatidilkolin asiltransferaz 3 (LPCAT3) tarafından PC/PE'ye dahil edilir. PE-AA ve PE-AdA lipoksijenazlar (LOX'lar) tarafından oksitlenebilir. LOX, membran üzerinde lipid peroksidasyonunu indüklemek için fosfatidiletanolamin bağlayıcı protein 1'e (PEBP1) ihtiyaç duyabilir. Buna ek olarak, diğer oksijenazlar, örneğin NADPH oksidazlar (NOXs) ve sitokrom P450 oksidoredüktazın (POR) lipid peroksidasyonuna katkıda bulunduğu bilinmektedir. Lipid peroksidasyonuna, ferroptotik hücre ölümünün nihai itici gücü olduğu öne sürülen nonenzimatik otoksidasyon da aracılık eder. Buna karşın NO, lipid peroksidikallerle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu ve ferroptozu azaltır (Lee ve ark., 2021).

GPX4 inhibisyonunu takiben, lipid peroksitler önce perinükleer membranlarda ve daha sonra membran permeabilizasyonundan hemen önce plazma membranında birikebilir. İlk lipid peroksit birikiminin daha spesifik bir bölgesi ER'dir ancak bazı bağlamlarda lizozomlarda, peroksizomlarda veya mitokondride de ilk birikim meydana gelebilir. Bilinmeyen oksitlenmiş lipid türlerinin ilk birikimini takiben, ACSL4'ün aktivasyonu, transkripsiyon faktörü NRF2'nin inhibisyonu veya değiştirilmiş iyon akışları yoluyla

plazma membranında lipid peroksidasyonunu artıran ileri beslemeli döngüler, bazı lipid peroksidasyon eşik seviyeleri aşıldığında hücre ölümünün gerçekleşmesine yardımcı olabilir. Bununla birlikte, membran lipid peroksit birikiminin erken evrelerinde artan Ca<sup>2+</sup> akışları, membran hasarını sınırlayabilen ve ölümcül membran permeabilizasyonunu önleyebilen taşıma için gerekli endosomal ayırma kompleksi III (ESCRT-III) proteinleri merkezli membran onarım mekanizmalarını da tetikleyecektir. PUFA'ların alımı ve metabolizması ile PUFA fosfolipidlerinin (PUFA-PL'ler) sentezi, ferroptozu karşı hücrel hassasiyeti önemli ölçüde şekillendirir. Buna karşılık, daha az oksitlenebilir tekli doymamış yağ asitlerinin (MUFA'lar) daha fazla oksitlenebilir PUFA'ların yerine alımını veya sentezini ve ardından fosfolipidlere dahil edilmesini destekleyen süreçlerin evrensel olarak lipid peroksidasyonunu sınırladığı ve böylece ferroptozu önlediği görülmektedir. Ekzojen MUFA'larla inkübasyon veya ACSL4'ün silinmesi gibi ferroptozu engelleyebilen belirli koşullar, perinükleer membranlarda lipid peroksit birikimini engellemiyor gibi görünse de ferroptozun başlamasını tamamen engellemektedir. Bir bütün olarak ele alındığında bu sonuçlar, hücrel düzeyde ferroptoz indüksiyonunun karmaşıklığını vurgulamaktadır (Pope ve Dixon., 2023).

## Alzheimer Hastalığında Hücre Ölüm

### Mekanizması Ferroptozun Rolü

Demansın en yaygın şekli olan Alzheimer hastalığı (AH), zaman içinde giderek kötüleşen bilişsel işlev, öğrenme ve bellekte azalma ve nöropsikiyatrik semptomlarla karakterize bir hastalıktır. Çalışmalar, AH ile ilişkili beyin patolojik değişikliklerinin demans semptomları ortaya çıkmadan 20 yıl veya daha uzun bir süre önce başladığını ve hastaların belirgin hafıza ve dil bozuklukları yaşamasının yıllar aldığını göstermiştir. Bunun nedeni, beyinde düşünme ve hafıza ile ilişkili nöronların hasar görmesidir. Epidemiyoloji, Alzheimer hastalığının 50 milyondan fazla insanı etkilediğini ve hasta sayısının hala hızla arttığını, giderek dünyanın en pahalı ve ölümcül hastalıklarından biri haline geldiğini göstermektedir.

Alzheimer hastalığının patogenezi net değildir, ancak altta yatan mekanizmalar arasında çözünmeyen amiloid plakları oluşturmak için çözünür amiloidin toplanması, tau proteininin anormal fosforilasyonu ve hücre içi nörofibriler yumakların (NFT'ler) oluşumu, nöroinflamasyon, ferroptoz, oksidatif stres ve metal iyon bozukluğu vb. yer almaktadır (Zhao ve ark., 2023).

Hücre dışı SP'lerin ve hücre içi NFT'lerin birikiminin yanı sıra, demir dishomeostazi, lipid peroksidasyonu ve oksidatif hasar da Alzheimer patolojisine dahil edilmektedir. Bu koşullar ferroptozda da önemli bir rol oynamaktadır, bu da ferroptozun AH ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir, ancak bu olası ilişkiyi araştıran nispeten az sayıda doğrudan çalışma vardır (Zheng ve ark., 2021). Bu bölümde, demir metabolizması, lipid peroksidasyonu ve GSH/GPX4 eksenini açısından AH ve ferroptoz arasındaki potansiyel ilişkiyi tanımlamayı ve ferroptoz ile AH arasındaki potansiyel ilişkiyi araştıran bazı çalışmalarını gözden geçirmeyi hedeflemekteyiz.

## Alzheimer Hastalığında Demir Metabolizması

### Alzheimer Hastalığında Aşırı Demir

#### Birikimi

Merkezi sinir sisteminde demir elementi, oksijen taşınması, DNA sentezi, mitokondriyal solunum ve nörotransmitterlerin sentezi ve metabolizması gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde kilit rol oynamaktadır. Bununla birlikte, demir seviyesi vücudun fizyolojik gereksinimlerini aştığında, fazla demir bir dizi patolojik süreçle dokulara, hücrelere ve proteinlere zarar vererek yıkıcı etkilere sebebiyet verebilir. Beyindeki demir seviyeleri, fizyolojik homeostazi korumak için sıkı bir şekilde modüle edilmektedir. Beynin belirli bölgelerindeki aşırı demir (bölgesel sideroz), özellikle korteks ve hipokampüste nörotoksiteyi ilerlettiği görülmektedir. Bu nedenle, beyinde demir dengesini korumak oldukça önemlidir (Wu ve ark., 2023).

1953 yılında histokimyasal tekniklerle AH hastalarının korteksinde artmış demir bulunmuştur. Sonraki birkaç yıl içinde araştırmacılar, AH hastalarının beyinlerinin amigdala,

hipokampus ve koku alma yollarında art arda aşırı demir birikimi bulmuşlardır. Demir birikimi, A $\beta$  plaklarının ve NFT'lerin yanlış katlanma sürecine katılmaktadır. Araştırmacılar AH beyinde A $\beta$  agregasyonu ve NFT'lerde seçici demir birikimi tespit etmişlerdir. Pozitron emisyon tomografisi (PET) ile birleştirildiğinde, beyin demir yükünün A $\beta$  birikimine bağlı bilişsel eksikliklerle pozitif ilişkisinin olduğu ve demirin, bilişsel bozukluğu şiddetlendirmek için A $\beta$  ile birleşebileceği gösterilmiştir. Beyindeki demir fazlalığı, sadece AH patogenezinde rol oynamakla kalmaz aynı zamanda hafif bilişsel bozukluğun (MCI, AH'nin erken bir aşaması) AH'ye dönüşümünün bir öngörücüsü olduğunu da belirtmek gerekmektedir. Dahası, farklı bölgelerdeki ferritin (FT) seviyesi AH için önemli bir belirleyicidir. Tau/A $\beta$ 42 oranına benzer şekilde, beyin omurilik sıvısındaki (BOS) FT, MCI'nin AH'ye ilerlemesini tahmin etmek için bir biyobelirteç olarak kullanılabilir. BOS'ta FT'nin azalması, MCI'nin AH'ye dönüşmesini 3 yıla kadar geciktirebilir. Ayrıca, serumdaki FT seviyesi, AH'nin erken teşhisi için bir belirteç olan neokortikal amiloid- $\beta$  yükü (NAL) miktarı ile pozitif korelasyon göstermektedir. Yüksek NAL grubunda, düşük NAL grubuna kıyasla daha yüksek serum FT seviyeleri gözlenmektedir, bu da serumdaki FT seviyesinin erken AH için bir belirteç olabileceğini kanıtlayabilir. Özetle, beyindeki aşırı demirin, AH'nin patolojik ilerlemesinde rol oynadığı ve AH için bir biyobelirteç olma potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir. A $\beta$  öncü proteini (APP), tau ve apolipoprotein E (APOE) gibi AH ile ilişkili birkaç protein, serebral demir homeostazını modüle edebilir. Bu proteinlerdeki hastalıkla ilişkili değişiklikler, demir biyokimyasını etkileyebilir ve ferroptotik hasarla ilişkili olabilir (Wu ve ark., 2023).

### A $\beta$ öncü proteini (APP) ve Demir Dengesi

A $\beta$  öncü proteinindeki (APP) proteolitik bölünme  $\alpha$ -sekretaz veya  $\beta$ -sekretaz ve  $\gamma$ -sekretaz içeren enzim kompleksleri yoluyla meydana gelen amiloidoz ve amiloidoz olmayan şekilde iki gruba ayrılmaktadır. Amiloid protein üretimi, APP'nin N- ve C-termininin  $\beta$ - ve  $\gamma$ -sekretazlar tarafından ardışık olarak bölünmesini ve böylece A $\beta$  peptitlerinin (genellikle 38, 40 ve 42 amino asit uzunluğunda) üretilmesini

ve salınmasını içerir. A $\beta$  peptidleri salgılandıktan sonra A $\beta$  oligomerleri, A $\beta$  protofibrilleri ve A $\beta$  fibrilleri oluşturmak üzere toplanır ve bunlar daha sonra amiloid plakları oluşturmak üzere üst üste yığılır. Aşırı hücre içi demir birikimi, furin (kesme aktif bir proteaz) transkripsiyonunu inhibe ederek  $\beta$ -sekretaz aktivitesini artırır, böylece amiloid protein üretim yolu üzerinden doğrudan A $\beta$  üretimini arttırmış olur. Amiloid olmayan protein üretim süreci, APP'nin  $\alpha$ -sekretaz aracılı bölünmesini içerir ve çözünür amiloid öncü proteini (sAPP) $\alpha$  ve 83-amino asit CTF (C83) ile sonuçlanır. APP'nin amiloidoz dışı işlenmesinin,  $\alpha$ -sekretaz aktivitesini ve sAPP $\alpha$ 'nın primer korteks nöronlarındaki dağılımını etkileyen demir tedavisinden etkilendiği bildirilmiştir. APP, plazma membranındaki ferroportini (Fpn) bağlar ve stabilize eder ve demir salınımını kolaylaştırır. APP nakavt farelerin beyinlerindeki Fpn seviyeleri aşağı doğru düzenlenmiş ve beyindeki demir çıktı kapasitesi önemli ölçüde azalmıştır. Ayrıca, demir içeriği artmış ve buna kortikal nöronların oksidatif stresi eşlik etmiştir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada APP ailesindeki mutasyonların Fpn'nin yerini değiştirerek nöronlardaki demiri etkileyebileceği gösterilmiştir. Dahası, APP'nin post-translasyonel modifikasyonları (glikozilasyon veya fosforilasyon gibi) APP'nin hücre yüzeyine taşınmasını engellemiştir. Böylece *FPN1*'in stabilitesine müdahale ederek hücre yüzeyindeki *FPN1* seviyesini azaltmış, nöronal demir homeostazını değiştirmiş ve hücre içi demir tutulmasına yol açmıştır. Özetle, APP demir ile etkileşime girerek AH hasarında önemli bir rol oynamaktadır (Wu ve ark., 2023).

### Tau Proteini ve Demir Dengesi

Tau proteini, birincil işlevi mikrotübül oluşumunu ve stabilizasyonunu teşvik etmenin yanı sıra aksonal taşıma ve nöron sağkalımını sürdürmek olan yüksek oranda çözünür, mikrotübülle ilişkili bir proteindir. Bir fosfoprotein olarak, fosforilasyon modifikasyonu mikrotübül oluşumunu uyarma yeteneğini olumsuz yönde etkileyebilir. Ayrıca, hiperfosforilasyonun tau agregasyonunun oluşumu için kritik olduğu varsayılmaktadır ve proteozom veya otofaji yoluyla

degradasyonunu değiştirmektedir. Nöronal mikrotübülleri stabilize etme, aksonal büyüme teşvik etme ve aksonal taşınmayı düzenleme rolünün yanı sıra tau, nöronal demir akışını kolaylaştırma işlevi de görür. Lei ve ark. (2012) tau eksikliğinin (yani çözünür tau kaybının) APP aracılı demir aktarımını bozabileceğini ve ardından nörotoksik demir birikimine ve nörodejenerasyona yol açabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca, nörofibriler yumaklardaki (NFT'ler) toplanmış tau proteini, biliverdin, serbest demir ve karbon monoksit (CO) üretmek için hücresel hem oksitleyebilen heme oksijenaz-1'in (*HO-1*) indüksiyonu ile ilişkilidir. Serbest kalan demir daha sonra Fenton reaksiyonunu katalize ederek beyin hücre içi oksidatif stresini devam ettiren yüksek seviyelerde endojen reaktif oksijen türleri (ROS) üretir. Bu bulgular, tau proteininin hücre demir homeostazının düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynadığını ve tau anormalliğinin hücre içi aşırı demir yüküyle yakından ilişkili olduğunu göstermektedir (Wang ve ark., 2022).

Demir, tau fosforilasyonunu modüle edebilir; dahası, hiperfosforile tau birikimini tetikleyebilir. Çalışmalar NFT'lerin demir redoksu ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Fe<sup>3+</sup>'ün Fe<sup>2+</sup>'ye indirgenmesi tau agregasyonunu tersine çevirmiştir; bunun nedeni Fe<sup>3+</sup>'ün A $\beta$  peptidinin histidin kalıntılarına bağlanması ve bu sinyali aşağı akım tau proteinine iletmesi olabilir. Hücre kültürü modellerinde, demir, tau'daki demir bağlama motifi ve insülin sinyalleme düzensizliği yoluyla hiperfosforile tau'nun agregasyonuna yol açabilir. Çalışmalar, tau proteininin nöronal mikrotübülleri stabilize ederek demir taşınmasında önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Normal fizyolojide, tau proteini hücre zarına taşınarak hücre demir akışını düzenleyebilir ve tau proteininin hiperfosforilasyonu ve agregasyonu da demir akışını etkileyerek nöronal demir birikimine yol açabilir. Ayrıca, demir birikimi nörodejeneratif bölgelerde NFT'lerle birlikte lokalize olur (Wang ve ark., 2022). Kısacası, tau proteini demir ile etkileşime girmekte ve AH patolojik sürecine katılmaktadır.

## ApoE ve Demir Dengesi

Apolipoprotein E (APOE - gen; apoE - protein), Alzheimer hastalığı (AH; risk  $\epsilon 2 < \epsilon 3 < \epsilon 4$ ) için risk oluşturan üç ortak izoformu olan 34 kDa lipid taşıyıcı bir glikoproteindir. APOE alel varyasyonunun bu riski nasıl sağladığı tartışılmaktadır, ancak apoE'nin sinaptik fonksiyonun düzenlenmesi, nörogenez, yanlış katlanmış proteinlerin uzaklaştırılması ve inflamasyon gibi çeşitli fizyolojik rolleri öne sürülmüştür. APOE  $\epsilon 4$  taşıyıcılarının bir özelliği de düşük beyin omurilik sıvısı (BOS) apoE proteini seviyeleridir. Düşük BOS apoE düzeyleri de genotipten bağımsız olarak AH'nin bir özelliğidir. Daha önce BOS apoE düzeyleri ile ferritin (beyin demirinin bir biyobelirteci) arasında şaşırtıcı bir korelasyon tespit edilmiş ve APOE  $\epsilon 4$  taşıyıcılarında BOS ferritininin  $\approx 20$  daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Son veriler, AH'de kortikal demir yükünün hastalığın ilerlemesini öngördüğünü ortaya koymaktadır. Ayrıca, yüksek BOS ferritininin pre-semptomatik APOE  $\epsilon 4$  taşıyıcılarında yedi yıl içinde hızlanan bilişsel gerilemeyi öngördüğünü ve bilişsel olarak gerileyen deneklerden stabil olanları ayırt edebildiği bulunmuştur. BioFINDER kohortunda, daha yüksek BOS ferritin düzeyleri,  $\epsilon 4$  taşıyıcılarında  $\epsilon 4$  olmayanlara kıyasla daha güçlü olan biyobelirteç onaylı klinik AH ile ilişkilendirilmiştir (Ayton ve ark., 2021). Ayrıca, yüksek hücre dışı demir seviyeleri nöronlarda APOE- $\epsilon 4$  ekspresyonunu yukarı doğru düzenleyerek A $\beta$  birikimini şiddetlendirmiştir (Xu ve ark., 2016). Sonuç olarak, demir homeostazı AH'nin patolojik mekanizmasında ferroptoz ile yakından ilişkilidir.

## Alzheimer Hastalığında Lipid Metabolizması

### Alzheimer Hastalığında Lipid

### Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu (LPO) başlatma, yayılma ve sonlandırma olmak üzere üç farklı aşama ile karakterize edilen kontrolsüzce ilerleyen enzimatik olmayan bir süreçtir. Hidroksil, alkoksil veya peroksil radikalleri tarafından başlatılan LPO, doymamış yağ asitlerinin karbon-karbon çift bağına bitişik metilen grubunda hidrojen soyutlaması yoluyla

ilerler. Karbon merkezli lipid radikalının oksijenlenmesi, daha sonra bitişik doymamış yağ asitlerinden bir hidrojen soyutlayan bir lipid peroksil radikali üretir ve kendi kendini sürdüren bir zincir reaksiyonu başlatarak ilk oksidatif olayın amplifikasyonuna yol açar. Sonlandırma ya radikal-radikal nötralizasyonu ya da  $\alpha$ -tokoferol, yani E vitamini gibi zincir kırıcı antioksidanlarla radikal etkileşimi sonucu gerçekleşir (Yin ve ark. 2011).

LPO'nun ikincil yan ürünleri ya oksijenli lipid yeniden düzenleme ürünleri ya da ayrılmış hidroperoksit yan ürünleri olarak kategorize edilebilir. Oksijenli lipid yeniden düzenleme ürünleri arasında çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) araşidonik asitten (ARA) türetilen izoprostan (IsoP) izomerleri ve PUFA dokosaheksaenoik asitten (DHA) türetilen nöroprostan (NeuroP) izomerleri bulunur. Fosfolipitlerin ana bileşeni olan PUFAs (çoklu doymamış yağ asitleri), özellikle (1Z, 4Z) pentadien grubu içerenler, lipid peroksidasyonuna en duyarlı olanlardır. Antioksidan sistemin aşırı lipid peroksidasyonunu kontrol edememesi durumunda, bozulmuş redoks homeostazisi meydana gelir ve bu da farklı patolojik durumlarda oksidatif stres hasarına yol açar. Neuronlarda büyük miktarda PUFA bulunması nedeniyle, bunlar ROS (reaktif oksijen türleri) saldırısına daha yatkın olup lipid peroksidasyonu kaskadına yol açabilir ve bu durum tersine daha fazla ROS üretimine neden olarak bir kısır döngü yaratabilir.

Membran fosfolipitleri ve yağ asitleri, Alzheimer hastalarında, bol miktarda SP'ler (amiloid beta plakları) ve NFT'ler (neurofibriler yumaklar) içeren bazı spesifik beyin bölgelerinde önemli ölçüde azalır. Membran fosfolipitlerinin bu kaybı, artmış lipid peroksidasyonu ile meydana gelebilir. Toksik A $\beta$  peptidi ve bol miktarda beyin demiri, serbest radikal üretiminin aşırı şekilde artmasına neden olabilir, bu radikaller doymamış yağ asitleriyle lipid peroksidasyonu yoluyla etkileşime girerek, membran fosfolipitlerinin kaybına ve AH patolojisinde görülen oksidatif stres hasarına yol açabilir. Hücre kültürü ve hayvan çalışmaları ile AH otopsi örnekleri, lipid peroksidasyonunda rol oynayan bazı

enzimlerin, LOX'lar, COX'lar, sitokrom c ve NOX'lar dahil olmak üzere, AH patolojisinin etiyolojisinde önemli rol oynadığını göstermiştir (Zheng ve ark., 2021). Örneğin, 12/15-lipooksijenaz (12/15-LOX) enzimi aktivitesi, AH hastalarının beyinlerinde belirgin şekilde artmış ve bu seviyeler, AH fare modellerinde hafıza ve öğrenme yeteneklerini de etkilemiştir. Bu bulgular, lipid peroksidasyonunun AH patolojik ilerlemesinde olası bir rolünü göstermektedir. Hücrelerdeki PUFA yoğunluğu ne kadar yüksekse, lipid peroksidasyonu ve ferroptoz tarafından neden olunan hasar o kadar büyük olur. Lethal seviyelere kadar büyük miktarda lipid peroksit birikimi, ferroptozun bir özelliğidir. Lipid peroksidasyonunun biyomarkerleri, AH patolojisinde artmıştır. A $\beta$ , ferroptoz lipid peroksidasyon süreci ile de potansiyel bir bağlantıya sahiptir. Deneyler, beyindeki A $\beta$  oligomer açısından zengin bölgede 4-HNE gibi lipid peroksitlerin seviyesinin önemli ölçüde arttığını göstermiştir, bu da A $\beta$  açısından zenginleşmenin lipid peroksidasyonunu içerebileceğini düşündürmektedir. A $\beta$  oligomerleri lipid çift katmanlarına gömülebilir, serbest radikal sentezi sırasında membran fosfolipidlerinin dehidrojenasyon etkinliğini etkileyebilir ve ferroptoz lipid peroksidasyonunun enzimatik olmayan süreçlerinin başlangıcını kontrol edebilir (Garcia-Vinuales ve ark., 2022).

Ferroptoz lipid peroksidasyon yolunda önemli bir antioksidan olan CoQ10, AH modeli farelerin serebral korteks ve hipokampusundeki A $\beta$  seviyelerini azaltmıştır (Plascencia-Villa ve Perry, 2021). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, patolojik A $\beta$  hücre içi amiloid toksitesinin oksitosin/ferroptoz ile düzenlenen hücre ölümünü indüklediği bulunmuştur. AH'nin önemli bir patolojik ürünü olan A $\beta$  ile ferroptoz lipid peroksidasyon sürecinin birbiriyle etkileşime girebileceğini göstermiştir (Huang ve ark., 2020). Bununla birlikte anormal fosforile tau proteini de ferroptoz lipid peroksidasyon süreci ile ilişkilidir. Fosforile tau proteininin hücre membranının lipid çift katmanına bağlandığı ve sitotoksik bir tau-fosfolipid kompleksi oluşturmak için membran fosfolipidleriyle etkileşime girdiği doğrulanmıştır, ancak ikisi arasındaki spesifik etki

mekanizması bilinmemektedir (Bok ve ark., 2021). Çalışmalar, A $\beta$  peptidlerinin ve anormal fosforile tau proteininin lipid peroksidasyonuna neden olduğunu ve bunun sonucunda lipid peroksidasyon ürünlerinin de APP işlenmesini teşvik ettiğini, böylece A $\beta$  peptidlerinin birikimini arttırdığını göstermiştir. Sonuç olarak, lipid peroksidasyonu AH patolojisinde önemli bir rol oynamakta ve bazı lipid peroksidasyon ürünlerinin, erken ve invaziv olmayan tanı için bir temel sağlayabileceği düşünülmektedir (Wu ve ark., 2023).

### Lipid Peroksidasyonunda Demirin Rolü

Serbest demir son derece reaktif bir element olup daha az reaktif bir formda farklı hücre bileşenlerinde depolanır. Buna rağmen, hücre içindeki serbest demir veya değişken demir havuzu, Fenton reaksiyonu ile ROS üretme kapasitesine sahiptir, yani Fe<sup>2+</sup> ile hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) arasındaki etkileşim ve sonrasında Fe<sup>3+</sup> ve hidroksit anyonunun oluşumu. Bu nedenle, demir içeriği sıkı bir şekilde düzenlenmelidir. Serbest demir, peroksidasyonu iki mekanizma ile başlatabilir ve yayabilir: doğrudan lipid hidroperoksit (LOOH) ile etkileşim veya hidrojen peroksit ile reaksiyon.

Fe<sup>2+</sup> LOOH ile reaksiyona girerek Fenton reaksiyonu yoluyla Fe<sup>3+</sup> ve LO $\cdot$  oluşturabilir. Ayrıca, Fe<sup>2+</sup>'in LOOH ile etkileşimi, Haber-Weiss reaksiyonu yoluyla LOO $\cdot$  üretir. Dahası, demir, lipooksijenazların demir bağımlı enzimler olması nedeniyle enzimatik peroksidasyona da dahil olur. Ayrıca, serbest demir, ikincil lipid peroksidasyon yan ürünlerinin elektrofille reaksiyona girerek parçalanmasına da katılır (Zhao ve ark., 2021).

Demirin lipid peroksidasyonundaki rolü iyi bir şekilde açıklanmış olsa da aşırı demir yüklenmesindeki lipid peroksidasyonunun etkisi yeterince ele alınmamıştır. Hücre zarlarındaki aşırı lipid peroksidasyonunun, normal işlevini bozan lipitler ve proteinleri hasara uğratarak özellikle mitokondri gibi organellerin ve membran bağımlı süreçlerin, örneğin veziküler trafik ve otofaji/mitofaji, işlevlerini



değiştirdiği hipotez edilmiştir. Bu değişiklikler, demir açısından zengin lipofuscin şeklinde demir birikimini tetikleyebilir (Villalón-García ve ark., 2022). Ayrıca, lipofuscin demiri çekerek Fenton reaksiyonunu katalize eden ve serbest radikal oluşumunu artıran redoks aktif bir yüzey oluşturur ve bunun sonucunda da lipid peroksidasyonunu artırır.

Villalón-García ve ark. (2022), Fosfolipaz A2 ile ilişkili nörodejenerasyon (PLAN) patofizyolojisini taklit etmeyi amaçlayarak lipid peroksidasyonunu indüklemek amacıyla radikal bir başlatıcı olan tert-Bütül peroksit ile demir ve lipofuscin birikimini değerlendirmişlerdir ve lipid peroksidasyonunun sağlıklı kontrol hücrelerinde indüklenmesinin demir/lipofuscin birikimine yol açtığını, kontrol hücrelerine demir takviyesi yapmanın lipid peroksidasyonunu artırdığını bulmuşlardır. PLAN ve kontrol hücre modellerindeki bu bulgulara dayanarak, lipid peroksidasyonunun temelde demir/lipofuscin birikimini indüklediği ve demir/lipofuscin birikiminin de lipid peroksidasyonunu bir kısır döngü içinde indüklediği sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte vitamin E 'nin ise lipid peroksidasyonunun yayılmasını engelleyen ve etkili bir ferroptozis inhibitörü olarak, lipid peroksidasyonunu ve demir/lipofuscin birikimini azalttığı, mitokondriyal disfonksiyonu düzelttiği ve PLAN hücre modellerindeki ana patolojik değişiklikleri iyileştirdiği bildirilmiştir (Villalón-García ve ark., 2022; Villalón-García ve ark., 2023).

### Alzheimer Hastalığında Redoks Dengesi

Redoks reaksiyonları genellikle metabolik yolların bir parçasıdır ve katabolik ve anabolik reaksiyonlarda rol oynar. Bu nedenle, moleküllerin parçalanması ve enerjinin serbest bırakılması, ayrıca aminoasitler/proteinler, yağ asitleri/lipidler ve nükleotitler/nükleik asitler gibi kompleks moleküllerin biyosentezi için gereklidir. Redoks homeostazi, sağlıklı fizyolojik homeostazın önemli bir parçasıdır. Anormal demir seviyeleri veya serbest demirin (LIP) varlığı, oksidatif stres oluşturarak beyin metabolizmasını değiştirebilir ve bu durum, beyin oksidatif hasara karşı yüksek derecede hassas

olduğundan nörodejenerasyona yol açabilir. Oksidatif stres belirteçleri (tiobarbitürik asit reaktif maddeler, 3-nitrotirozin, protein karbonil grupları, 4-HNE ve akrolein gibi) AH hastalarında artarken, antioksidan enzimler (GPX, glutatyon-S-transferaz ve süperoksit dismutaz gibi) MCI, hafif AH ve AH hastalarının frontal korteks dokularındaki mitokondri ve sinaptomozom bölümlerinde azalmıştır. GSH, çoğunlukla sitoplazmada ve bazı organellerde (örneğin mitokondri) bulunan önemli bir hücrel enzimatik olmayan antioksidandır. Ferroptozda kritik olan birçok biyolojik süreçte rol oynamaktadır. AH ile ilişkili GSH seviyeleri, hem in vitro hem de in vivo AH'nin gelişimi ve ilerlemesinde bulunmuştur. GSH seviyeleri, beyin amiloidozu ve AH patolojisiyle yakından ilişkilidir. GSH, Fe<sup>2+</sup> ile bağlanarak demir bağımlı oksidasyonu engellemek için kararsız LIP'te bulunur ve GPX4 aracılı lipid detoksifikasyonu için bir substrat olarak görev yaparak redoks homeostazını iki açıdan korumaktadır (Friedmann Angeli ve ark., 2014). Birçok çalışma, GSH içeriğindeki değişikliklerin redoks homeostazını bozduğunu ve AH'de ferroptozun oluşumu ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Hambricht ve ark., 2017).

Casley ve ark. (2002), Aβ eklenmesinin kültürlenmiş nöronlarda GSH tükenmesine yol açabileceğini bildirmiştir. Tersine, GSH öncüsü gamma-glutamil sistein etil esterinin (GCEE) verilmesi, hücrel GSH seviyelerini artırmış ve nöronal hücrelerde Aβ ile indüklenen nörotoksititeye karşı koruyucu rol üstlenmiştir. Ayrıca, AH'nin başlangıcı ve ilerlemesi sırasında in vitro ve in vivo beyindeki GSH seviyelerinde azalmalar gözlemlenmiştir. Bu bulgular, GSH homeostazındaki bozulmanın AH patolojisiyle ilişkili olduğunu güçlü bir şekilde göstermektedir. GSH seviyelerindeki değişikliklerin yanı sıra, GSH ile 4-HNE arasındaki reaksiyonu katalize eden GSH ile ilişkili antioksidan enzim olan glutatyon S-transferazlarının (GST) AH patolojisinde değiştiği de görülmüştür (Aquilano ve ark., 2014). GST'lerin enzim aktivitesi ve protein seviyeleri, AH hastalarında çoğu beyin bölgesinde ve beyin omurilik sıvısında (BOS) önemli ölçüde azalmıştır (Lovell ve ark., 1998). Dahası, glutatyon S-transferaz omega-1 ve 2 genleri

(*GSTO1*, *GSTO2*) polimorfizmleri, AH'nin daha erken başlangıcı için risk faktörleri olarak ilişkilendirilmiştir (Allen ve ark., 2012). Bu nedenle, *GSH* seviyelerinin geri kazandırılması, AH ilerlemesini hafifletmenin etkili bir yolu olabilir. *GSH* sentezinin bozulmasının yanı sıra, *Gpx4*'ün inhibe edilmesi, ferroptozla ilişkili AH patogenezinde başka bir hassasiyet faktörüdür (Friedmann Angeli ve ark., 2014). *GPX4*, antioksidan enzim ailesinin bir üyesi olup sekiz izoenzimden (*GPX1-GPX8*) oluşur ve bunlar arasında en yaygın olarak beyin dokusunda ifade edilen *GPX4*, *GSH* veya diğer biyolojik redüktantlar tarafından hidroperoksitleri katalize eder. *GPX4*, toksik lipid hidroperoksitlerini, *GSH*'yi substrat olarak kullanarak toksik olmayan lipid alkollerine indirir. *GSH*'nin tükenmesi veya doğrudan *GPX4* inhibisyonu, lipid peroksidasyonuna/oksidatif strese yol açabilir ve nihayetinde hücre ölümüne neden olabilir. *GPX4*'ün, Alzheimer hastalığında ferroptozun kritik bir düzenleyici enzimi olduğu gösterilmiştir (Yang ve ark., 2014).

*GPX4* beyin indüksiyonlu knockout farelerinde, hipokampusta nörodejenerasyon ve bilişsel bozulma gözlemlenmiştir. Ayrıca, *GPX4* translasyonunu kontrol eden guanin-zengin dizi bağlayıcı faktör 1 (*Grsf1*) ekspresyonu, AH fare beyinlerinde azalmıştır. *Gpx4*'ün ön beyinde, AH patolojisinde sıklıkla etkilenen bölgede yok edilmesi, *Gpx4* beyin indüklenebilir knockout (*Gpx4BIKO*) farelerinde bilişsel bozulma ve hipokampal nörodejenerasyona yol açmıştır. Ayrıca, yüksek lipid peroksidasyonu, hücre dışı sinyal regülasyonlu kinaz (*ERK*) aktivasyonu ve artmış nöroinflamasyon gibi ferroptozun klasik özellikleri de gözlemlenmiş ve ferroptoz inhibitörü ile tedavi, bu farelerde nörodejenerasyonu iyileştirebilmiştir (Hambright ve ark., 2017).

Dahası, *Gpx1* ve *Gpx4*'teki polimorfizmler, Güney Brezilya popülasyonunda hafıza bozulması ve AH ile anlamlı şekilde ilişkilendirilmiştir. Mevcut çalışmalar, AH hastalarından alınan beyin hücrelerinde *GSH* bozulması, *GPX4* inaktivasyonu, artmış ROS'a yol açan demir metabolizması dengesizliği, lipid peroksidasyonu ve mitokondriyal

anormallikler dahil olmak üzere ferroptoz benzeri biyokimyasal ve morfolojik özellikler sergilediğini ve demir metabolizması bozukluğunun amiloid beta (A $\beta$ ), senil plaklar (SP'ler) ve nörofibriller yumaklarla (NFT) yakından ilişkili olduğunu göstermiştir (Pena-Bautista ve ark., 2018).

Bir bütün olarak ele alındığında bu bulgular, azalmış *GSH* içeriği ve düşük *Gpx4* seviyelerinin redoks dengesizliğine yol açtığını ve bu redoks homeostaz yolu hedef alındığında AH'deki ferroptoz ile ilişkili hasarın hafifletilebileceğini düşündürmektedir.

## SONUÇ

Alzheimer hastalığı, patolojik ve klinik olarak heterojen bir grup hastalıktır ve birden fazla faktör, hastalığın başlangıcını ve ilerlemesini etkileyebilir. Şu anda onaylanmış klinik ilaçlar, AH'nin semptomlarını kontrol etmekte ancak ilerlemesini tedavi edememektedir. AH'nin sağlık sistemleri, aileler ve bireyler üzerindeki ağır yükü göz önüne alındığında, AH patofizyolojisinden sorumlu temel mekanizmaları keşfetmeye acil bir ihtiyaç vardır.

Şimdiye kadar, AH'nin patogenezinde yer alan birkaç farklı moleküler mekanizma ve yolak gösterilmiştir; bunlar arasında demir dengesizliği, lipid peroksidasyonu ve bozulmuş glutatyon metabolizması bulunmaktadır; bunların hepsi ferroptotik hücre ölümü ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. Ferroptoz tanımlandığından beri, patogenezi ve klinik uygulamaları araştırmaların ilgi odağı olmuştur. Yeni bir hücre ölümü şekli olarak, birçok çalışmada kanser tedavi müdahalesindeki potansiyeline odaklanılmıştır.

AH ile ferroptoz arasındaki mekanizmalar tam olarak aydınlatılmamıştır ancak AH'deki demir dengesizliği, lipid peroksidasyonu ve *GSH/GPX4* ekseninin bozulması gibi dolaylı kanıtlar, ferroptozun AH patogenezine dahil olduğunu bize göstermektedir. Bu nedenle, bu görüşü doğrulamak amacıyla daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır ve bu tür çalışmalardan elde edilecek sonuçların, AH'nin seyrini

değiştirebileceği ve AH'li hastalar için fayda sağlayabileceği düşünülmektedir.

### Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması içinde olmadıklarını beyan etmişlerdir.

## KAYNAKLAR

Alim, I., Caulfield, J. T., Chen, Y., Swarup, V., Geschwind, D. H., Ivanova, E., ... & Ratan, R. R. (2019). Selenium drives a transcriptional adaptive program to block ferroptosis and treat stroke. *Cell*, 177(5), 1262-1279.

Allen, M., Zou, F., Chai, H. S., Younkin, C. S., Miles, R., Nair, A. A., ... & Ertekin-Taner, N. (2012). Glutathione S-transferase omega genes in Alzheimer and Parkinson disease risk, age-at-diagnosis and brain gene expression: an association study with mechanistic implications. *Molecular neurodegeneration*, 7, 1-12.

Aquilano, K., Baldelli, S., & Ciriolo, M. R. (2014). Glutathione: new roles in redox signaling for an old antioxidant. *Frontiers in pharmacology*, 5, 196.

Ayton, S., Janelidze, S., Roberts, B., Palmqvist, S., Kalinowski, P., Diouf, I., ... & Hansson, O. (2021). Acute phase markers in CSF reveal inflammatory changes in Alzheimer's disease that intersect with pathology, APOE ε4, sex and age. *Progress in Neurobiology*, 198, 101904.

Bai, Q., Liu, J., & Wang, G. (2020). Ferroptosis, a regulated neuronal cell death type after intracerebral hemorrhage. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14, 591874.

Bannai, S., & Kitamura, E. (1980). Transport interaction of L-cystine and L-glutamate in human diploid fibroblasts in culture. *The Journal of biological chemistry*, 255(6), 2372-2376.

Bayır, H., Dixon, S. J., Tyurina, Y. Y., Kellum, J. A., & Kagan, V. E. (2023). Ferroptotic mechanisms and therapeutic targeting of iron metabolism and lipid peroxidation in the kidney. *Nature Reviews Nephrology*, 19(5), 315-336.

Bok, E., Leem, E., Lee, B. R., Lee, J. M., Yoo, C. J., Lee, E. M., & Kim, J. (2021). Role of the lipid membrane and membrane proteins in tau pathology. *Frontiers in cell and developmental biology*, 9, 653815.

Cao, J. Y., & Dixon, S. J. (2016). Mechanisms of ferroptosis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73, 2195-2209.

Casley, C. S., Land, J. M., Sharpe, M. A., Clark, J. B., Duchon, M. R., & Canevari, L. (2002). 6-Amyloid fragment 25-35 causes mitochondrial

dysfunction in primary cortical neurons. *Neurobiology of disease*, 10(3), 258-267.

Dixon, S. J., Lemberg, K. M., Lamprecht, M. R., Skouta, R., Zaitsev, E. M., Gleason, C. E., ... & Stockwell, B. R. (2012). Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*, 149(5), 1060-1072.

Doll, S., Proneth, B., Tyurina, Y. Y., Panzilius, E., Kobayashi, S., Ingold, I., ... & Conrad, M. (2017). ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition. *Nature chemical biology*, 13(1), 91-98.

Dolma, S., Lessnick, S. L., Hahn, W. C., & Stockwell, B. R. (2003). Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells. *Cancer cell*, 3(3), 285-296.

Du, Y., & Guo, Z. (2022). Recent progress in ferroptosis: inducers and inhibitors. *Cell death discovery*, 8(1), 501.

Feng, J., Lu, P. Z., Zhu, G. Z., Hooi, S. C., Wu, Y., Huang, X. W., ... & Lu, G. D. (2021). ACSL4 is a predictive biomarker of sorafenib sensitivity in hepatocellular carcinoma. *Acta Pharmacologica Sinica*, 42(1), 160-170.

Friedmann Angeli, J. P., Schneider, M., Proneth, B., Tyurina, Y. Y., Tyurin, V. A., Hammond, V. J., ... & Conrad, M. (2014). Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice. *Nature cell biology*, 16(12), 1180-1191.

García-Viñuales, S., Sciacca, M. F., Lanza, V., Santoro, A. M., Grasso, G., Tundo, G. R., ... & Milardi, D. (2021). The interplay between lipid and Aβ amyloid homeostasis in Alzheimer's Disease: risk factors and therapeutic opportunities. *Chemistry and Physics of Lipids*, 236, 105072.

Hambright, W. S., Fonseca, R. S., Chen, L., Na, R., & Ran, Q. (2017). Ablation of ferroptosis regulator glutathione peroxidase 4 in forebrain neurons promotes cognitive impairment and neurodegeneration. *Redox biology*, 12, 8-17.

Huang, L., McClatchy, D. B., Maher, P., Liang, Z., Diedrich, J. K., Soriano-Castell, D., ... & Currais, A. (2020). Intracellular amyloid toxicity induces oxytosis/ferroptosis regulated cell death. *Cell death & disease*, 11(10), 828.

Ingold, I., Berndt, C., Schmitt, S., Doll, S., Poschmann, G., Buday, K., ... & Conrad, M. (2018). Selenium utilization by GPX4 is required to prevent hydroperoxide-induced ferroptosis. *Cell*, 172(3), 409-422.

Kist, M., & Vucic, D. (2021). Cell death pathways: intricate connections and disease implications. *The EMBO Journal*, 40(5), e106700.

Lee, J. Y., Kim, W. K., Bae, K. H., Lee, S. C., & Lee, E. W. (2021). Lipid metabolism and ferroptosis. *Biology*, 10(3), 184.

- Lei, P., Ayton, S., Finkelstein, D. I., Spoerri, L., Ciccotosto, G. D., Wright, D. K., ... & Bush, A. I. (2012). Tau deficiency induces parkinsonism with dementia by impairing APP-mediated iron export. *Nature medicine*, 18(2), 291-295.
- Li, J., Cao, F., Yin, H. L., Huang, Z. J., Lin, Z. T., Mao, N., ... & Wang, G. (2020). Ferroptosis: past, present and future. *Cell death & disease*, 11(2), 88.
- Li, J., Lama, R., Galster, S. L., Inigo, J. R., Wu, J., Chandra, D., ... & Wang, X. (2022). Small-molecule MMRi62 induces ferroptosis and inhibits metastasis in pancreatic cancer via degradation of ferritin heavy chain and mutant p53. *Molecular cancer therapeutics*, 21(4), 535-545.
- Liu, D., Liang, C. H., Huang, B., Zhuang, X., Cui, W., Yang, L., ... & Chu, B. (2023). Tryptophan metabolism acts as a new anti-ferroptotic pathway to mediate tumor growth. *Advanced Science*, 10(6), 2204006.
- Lovell, M. A., Xie, C., & Markesbery, W. R. (1998). Decreased glutathione transferase activity in brain and ventricular fluid in Alzheimer's disease. *Neurology*, 51(6), 1562-1566.
- Murphy, T. H., Miyamoto, M., Sastre, A., Schnaar, R. L., & Coyle, J. T. (1989). Glutamate toxicity in a neuronal cell line involves inhibition of cystine transport leading to oxidative stress. *Neuron*, 2(6), 1547-1558.
- Patterson, C. The state of the art of dementia research: New frontiers, *World Alzheimer Report* (2018).
- Peña-Bautista, C., Vigor, C., Galano, J. M., Oger, C., Durand, T., Ferrer, I., ... & Cháfer-Pericás, C. (2018). Plasma lipid peroxidation biomarkers for early and non-invasive Alzheimer Disease detection. *Free Radical Biology and Medicine*, 124, 388-394.
- Plascencia-Villa, G., & Perry, G. (2021). Preventive and therapeutic strategies in Alzheimer's disease: focus on oxidative stress, redox metals, and ferroptosis. *Antioxidants & redox signaling*, 34(8), 591-610.
- Pope, L. E., & Dixon, S. J. (2023). Regulation of ferroptosis by lipid metabolism. *Trends in Cell Biology*.
- Radadiya, P. S., Thornton, M. M., Puri, R. V., Yerrathota, S., Dinh-Phan, J., Magenheimer, B., ... & Sharma, M. (2021). Ciclopirox olamine induces ferritinophagy and reduces cyst burden in polycystic kidney disease. *JCI insight*, 6(8).
- Schubert, D., Kimura, H., & Maher, P. (1992). Growth factors and vitamin E modify neuronal glutamate toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(17), 8264-8267.
- Skonieczna, M., Cieslar-Pobuda, A., Saenko, Y., Foksinski, M., Olinski, R., Rzeszowska-Wolny, J., & Wiechec, E. (2017). The impact of DIDS-induced inhibition of voltage-dependent anion channels (VDAC) on cellular response of lymphoblastoid cells to ionizing radiation. *Medicinal Chemistry*, 13(5), 477-483.
- Skouta, R., Dixon, S. J., Wang, J., Dunn, D. E., Orman, M., Shimada, K., ... & Stockwell, B. R. (2014). Ferrostatins inhibit oxidative lipid damage and cell death in diverse disease models. *Journal of the American Chemical Society*, 136(12), 4551-4556.
- Song, Q., Peng, S., Sun, Z., Heng, X., & Zhu, X. (2021). Temozolomide drives ferroptosis via a DMT1-dependent pathway in glioblastoma cells. *Yonsei medical journal*, 62(9), 843.
- Song, S., Su, Z., Kon, N., Chu, B., Li, H., Jiang, X., ... & Gu, W. (2023). ALOX5-mediated ferroptosis acts as a distinct cell death pathway upon oxidative stress in Huntington's disease. *Genes & Development*, 37(5-6), 204-217.
- Sun, Z., Zhao, C., Liu, X., Zhang, P., Wang, X., Man, X., ... & Xiang, Y. (2023). Mutation analysis of the ECE1 gene in late-onset Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 129, 58-61.
- Tang, D., Chen, X., Kang, R., & Kroemer, G. (2021). Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications. *Cell research*, 31(2), 107-125.
- Tiwari, S., Atluri, V., Kaushik, A., Yndart, A., & Nair, M. (2019). Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. *International journal of nanomedicine*, 5541-5554.
- Van der Flier PhD, W. M. (2021). Philip Scheltens, Bart De Strooper, Miia Kivipelto, Henne Holstege, Gael Chételat, Charlotte E Teunissen, Jeffrey Cummings, Wiesje M van der Flier. *Lancet*, 397, 1577-90.
- Verma, A., Waiker, D. K., Bhardwaj, B., Saraf, P., & Shrivastava, S. K. (2022). The molecular mechanism, targets, and novel molecules in the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic Chemistry*, 119, 105562.
- Villalón-García, I., Álvarez-Córdoba, M., Povea-Cabello, S., Talaverón-Rey, M., Villanueva-Paz, M., Luzón-Hidalgo, R., ... & Sánchez-Alcázar, J. A. (2022). Vitamin E prevents lipid peroxidation and iron accumulation in PLA2G6-Associated Neurodegeneration. *Neurobiology of disease*, 165, 105649.
- Villalón-García, I., Povea-Cabello, S., Álvarez-Córdoba, M., Talaverón-Rey, M., Suárez-Rivero, J. M., Suárez-Carrillo, A., ... & Sánchez-Alcázar, J. A. (2023). Vicious cycle of lipid peroxidation and iron accumulation in neurodegeneration. *Neural Regeneration Research*, 18(6), 1196-1202.
- Wang, C., Chen, S., Guo, H., Jiang, H., Liu, H., Fu, H., & Wang, D. (2022). Forsythoside a mitigates alzheimer's-like pathology by inhibiting ferroptosis-mediated neuroinflammation via Nrf2/GPX4 axis activation. *International Journal of Biological Sciences*, 18(5), 2075.
- Wang, S., Jiang, Y., Liu, Y., Liu, Q., Sun, H., Mei, M., & Liao, X. (2022). Ferroptosis promotes microtubule-associated protein tau aggregation via

GSK-3 $\beta$  activation and proteasome inhibition. *Molecular Neurobiology*, 59(3), 1486-1501.

Wenz, C., Faust, D., Linz, B., Turmann, C., Nikolova, T., & Dietrich, C. (2019). Cell-cell contacts protect against t-BuOOH-induced cellular damage and ferroptosis in vitro. *Archives of toxicology*, 93, 1265-1279.

Wu, L., Xian, X., Tan, Z., Dong, F., Xu, G., Zhang, M., & Zhang, F. (2023). The role of iron metabolism, lipid metabolism, and redox homeostasis in Alzheimer's disease: from the perspective of ferroptosis. *Molecular Neurobiology*, 60(5), 2832-2850.

Xu, H., Perreau, V. M., Dent, K. A., Bush, A. I., Finkelstein, D. I., & Adlard, P. A. (2016). Iron regulates apolipoprotein E expression and secretion in neurons and astrocytes. *Journal of Alzheimer's Disease*, 51(2), 471-487.

Yagoda, N., Von Rechenberg, M., Zaganjor, E., Bauer, A. J., Yang, W. S., Fridman, D. J., ... & Stockwell, B. R. (2007). RAS-RAF-MEK-dependent oxidative cell death involving voltage-dependent anion channels. *Nature*, 447(7146), 865-869.

Yan, H. F., Zou, T., Tuo, Q. Z., Xu, S., Li, H., Belaidi, A. A., & Lei, P. (2021). Ferroptosis: mechanisms and links with diseases. *Signal transduction and targeted therapy*, 6(1), 49.

Yang, W. S., Kim, K. J., Gaschler, M. M., Patel, M., Shchepinov, M. S., & Stockwell, B. R. (2016). Peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenases drives ferroptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(34), E4966-E4975.

Yang, W. S., SriRamaratnam, R., Welsch, M. E., Shimada, K., Skouta, R., Viswanathan, V. S., ... & Stockwell, B. R. (2014). Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell*, 156(1), 317-331.

Yao, H., Jiang, W., Liao, X., Wang, D., & Zhu, H. (2024). Regulatory mechanisms of amino acids in ferroptosis. *Life Sciences*, 122803.

Yin, H., Xu, L., & Porter, N. A. (2011). Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical reviews*, 111(10), 5944-5972.

Zhao, D., Yang, K., Guo, H., Zeng, J., Wang, S., Xu, H., ... & Ge, J. (2023). Mechanisms of ferroptosis in Alzheimer's disease and therapeutic effects of natural plant products: a review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 164, 114312.

Zhao, T., Guo, X., & Sun, Y. (2021). Iron accumulation and lipid peroxidation in the aging retina: implication of ferroptosis in age-related macular degeneration. *Aging and disease*, 12(2), 529.

Zheng, H., Jiang, J., Xu, S., Liu, W., Xie, Q., Cai, X., ... & Li, R. (2021). Nanoparticle-induced ferroptosis: detection methods, mechanisms and applications. *Nanoscale*, 13(4), 2266-2285.

Zou, Y., Henry, W. S., Ricq, E. L., Graham, E. T., Phadnis, V. V., Maretich, P., ... & Schreiber, S. L. (2020). Plasticity of ether lipids promotes ferroptosis susceptibility and evasion