

Endoplazmik Retikülüm Stresi ve Obezite İlişkinine Genel Bir Bakış

An Overview of the Endoplasmic Reticulum Stress and Interrelation with Obesity: Review

Özge KÖSE,^a
Pınar ERKEKOĞLU,^a
Büşra ÖZYURT,^a
Belma KOÇER GÜMÜŞEL^a

^aFarmasötik Toksikoloji AD,
Hacettepe Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi,
Ankara

Geliş Tarihi/Received: 04.03.2017
Kabul Tarihi/Accepted: 29.05.2017

Yazışma Adresi/Correspondence:
Belma KOÇER GÜMÜŞEL
Hacettepe Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Toksikoloji AD, Ankara,
TÜRKİYE/TURKEY
belmagumusel@yahoo.com

ÖZET Özellikle son 20 yıldır dünya çapında bir epidemi şeklinde görülen obezite, vücutta anormal ve aşırı yağ birikimi olarak tanımlanan bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2015 yılı tahminlerine göre dünya genelindeki son durum endişe verici olarak gözükmektedir. Özellikle çocukluk çağına obezite görülme insidansı 1980 yılından günümüze dek üç kat artmıştır. DSÖ tarafından, 2014 yılında 18 yaş ve üstü 1,9 milyar aşırı kilolu insan olduğu ve bunların 600 milyonunun obez olduğu bildirilmiştir. Vücut ağırlığı, enerji alımı ve enerji tüketimi arasındaki doğru dengeye bağlıdır. Bu denge alım yönünde bozulursa, periferik dokularda aşırı yağ birikimi gözlenmektedir. Yağ birikimi, inflamasyon, Tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve hatta kanser gibi metabolik bozukluklara neden olabilmektedir. İnflamasyon ve metabolik bozukluklar proinflamatuvar sitokinleri ve immün sistemin diğer mediyatörlerini tetiklemekte ve endoplazmik retikülüm (ER) stresine neden olmaktadır. ER stresinin periferik insülin direnci, obezite ve Tip 2 diyabetin gelişiminin altında yatan mekanizmalardan biri olduğu yapılan birçok çalışmada ortaya konmuştur. Bu çalışmada, ER stresi ve obeziteyle olan ilişkisinden söz edilecektir.

Anahtar Kelimeler: Endoplazmik retikülüm stresi; katlanmamış protein cevabı; obezite

ABSTRACT Particularly in the last 20 years, obesity has been an epidemic worldwide and it is a disease defined as abnormal and excessive fat accumulation in the body. According to the estimates of the World Health Organization (WHO) in 2015, the latest situation across the world seems to be worrisome. Notably, the prevalence of childhood obesity increased three-fold from 1980 till today. In 2014, WHO reported that 1.9 billion people aged 18 or above were overweight and also 600 million of these were obese. Body weight depends on a direct balance between energy intake and energy consumption. If there is an imbalance, in the favor of energy intake, excessive fat accumulation is observed in peripheral tissues. It can cause metabolic disorders such as fat accumulation, inflammation, type 2 diabetes, cardiovascular diseases and even cancer. Inflammation and metabolic disorders trigger pro-inflammatory cytokines and other mediators of the immune system, and they also lead to the endoplasmic reticulum (ER) stress. It has been demonstrated in many studies that the ER stress is one of the mechanisms underlying the development of peripheral insulin resistance, obesity, and type 2 diabetes. In this review, ER stress and interrelation with obesity will be discussed.

Keywords: Endoplasmic reticulum stress; unfolded protein response; obesity

Obezite, vücudun gereksiniminden fazla gıda alımı nedeni ile periferik yağ dokusu oranında artış olması ve bunun sonucunda da vücut ağırlığının artması olarak tanımlanmaktadır.¹ Obezite, başta kardiyovasküler ve endokrin sistem olmak üzere vücudun tüm organ ve sistemlerini etkileyerek, çeşitli bozukluklara ve hatta ölümlere yol açabilen önemli bir sağlık sorunudur.² Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından, en

riskli 10 hastalıktan biri olarak kabul edilmektedir. DSÖ tarafından, 2014 yılında 18 yaş ve üstü 1,9 milyar aşırı kilolu insan olduğu ve bunların 600 milyonunun obez olduğu bildirilmiştir.³ Obezite, gelişmiş ülkelerdeki en önemli metabolik bozukluktur; genetik ve çevresel etmenlerin etkileşimi ile oluşan kompleks multifaktöriyel kronik bir hastalıktır.^{4,5}

Birçok çalışmada, obezitenin altında yatan mekanizmanın, çok fonksiyonlu bir organel olan endoplazmik retikulum (ER) da tetiklenen stres faktörleri ve bunun sonucunda ER'nin işlevlerinin bozulması olduğu gösterilmiştir. ER; proteinlerin katlandığı, son şekillerini aldığı ve hücre dışına gönderildiği bir organel olmasının yanı sıra, bir "stres-algılama organeli" olarak da nitelendirilmektedir. Son yıllarda ER ile yapılan birçok çalışmada, ER'nin stres durumlarında katlanmamış protein yanıtı [unfolded protein response (UPR)] yolaklarını aktive ederek, kendi iç homeostazını düzenlediği belirlenmiştir. UPR, özel bir stres yanıtıdır. Bu çalışmada, ER stresi ve obeziteyle olan ilişkisinden söz edilmiş; obezitede UPR yolaklarındaki değişiklikler değerlendirilmiştir.

ENDOPLAZMİK RETİKULUM: YAPISI VE FONKSİYONLARI

ER ökaryotlarda kompleks yapıdaki protein katlanması, olgunlaşması, hücre içinde işlev göreceklere bölgelere taşınması ve bu süreçte kalite kontrolünden sorumlu olan en önemli organeldir.⁶

Dinamik bir organel olan ER, granüllü [rough endoplasmic reticulum (RER)] ve granülsüz [smooth endoplasmic reticulum (SER)] olmak üzere iki farklı tipte olabilmektedir. RER'nin ağısı yapısının üzerine ribozomlar yerleşmiştir; SER'nin üzerinde ribozomlar bulunmamaktadır. RER ve SER'nin sayısı ve morfolojisi doku ve hücre tipine bağlı olarak veya hücrenin belirli fizyolojik ihtiyaçlarına göre değişebilmektedir.⁶

SER, lipit sentezinde görevli hücrelerde daha yüksek oranlarda bulunmaktadır ve yağ asidi, fosfolipit sentezi, karbonhidrat metabolizması ve Ca²⁺ homeostazının regülasyonu için önemlidir. SER'de, lipit ve steroid yapısındaki hormonlar sentezlen-

mekte ve karbonhidrat metabolizması ve ilaç ve tüm diğer ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu gerçekleşmektedir. Üzerinde tüm transmembran proteinlerin sentezinden sorumlu olan ribozomları taşıyan RER ise proteinlerin ikincil ve üçüncül yapılarının katlandığı, birleştirildiği ve özel enzimlerle olgunlaştırıldığı organeldir.^{6,7} Protein sentezinde görevli olan hücrelerde RER daha yüksek oranlarda bulunmaktadır. Protein sentezi başladığında, RER genişler ve ribozomların işgal edeceği daha geniş yüzey alanı sağlayan dallanmış ER formuna dönüşmektedir. Protein sentezi sürecinde, yeni sentezlenen proteinler katlanmamış polipeptit zincirleri hâlinde ribozomdan çıkarak, ER'nin derin sisternasına doğru itilmektedir.⁸ ER'ye gelen yeni sentezlenmiş protein, çeşitli modifikasyonlara (N-glikozilasyon, disülfid oluşumu, hidroksilasyon, oligomerizasyon) uğradıktan sonra katlanabilmektedir.⁹ Glikozilasyon sonucu proteine hidrofilik özellik kazandırılarak, sudaki çözünürlüğü arttırmakta ve bir oligosakkaritin yardımıyla proteinin etrafını çevreleyen proteinlerle ilişkisi engellenmektedir. Böylece, bu oligosakkarit bir anlamda "şaperon" olarak görev yapmış olmaktadır.¹⁰⁻¹² Bu süreçler, özelleştirilmiş katlanma enzimleri ve şaperon proteinlerin yardımı ile gerçekleşmektedir.¹¹⁻¹³

ER de yer alan en önemli şaperon ve katlanma yardımcı proteinleri/enzimleri şunlardır:¹²

1. Glikoz regüle protein-78 (GRP-78) gibi ısı şok protein ailesi ve ko-şaperon yardımcıları,
2. Kalneksin, kalretikulin gibi şaperon lektinleri,
3. Protein disülfid izomeraz ailesinin oksidoredüktazları.

Protein katlanma işlemi tamamlandıktan sonra, olgun proteinler golgi cismine doğru yol almaktadır. Ancak, proteinlerin büyük bir fraksiyonu doğru bir şekilde katlanamayabilmektedir. Bu proteinler GRP78 gibi şaperonlar tarafından tanınmakta ve daha sonra yeniden katlama işlemlerinin gerçekleştirilmesi için ER'de yerleri korunmaktadır.^{11,12} Tekrar katlama işleminin başarısız olduğu durumlarda ise bu proteinler ER-ilişkili degradasyon mekanizması [endoplasmic reticulum-associated protein degradation (ERAD)] aracılığı ile ER

homeostazının korunmasını sağlamak için ER'den elimine edilmektedir.^{11,12} Herhangi bir protein katlanması sırasında meydana gelebilecek hidrofobik kalıntılara maruziyet, genellikle yanlış protein katlanmasına ve agregasyona yol açan farklı polipeptit zincirlerinin birbirleri ile etkileşmesine neden olabilmektedir.⁷

Protein katlanması ve sentezlenmesine ek olarak, ER hücre canlılığının sürdürülmesinde hayati işlevlere sahiptir. Örneğin; ER önemli bir Ca²⁺ deposu olup, protein katlanması ve taşınmasındaki rolü nedeni ile dinamik bir Ca²⁺ havuzu olarak nitelendirilmektedir.⁶ Eğer ER'de Ca²⁺ salımının kontrolü bozulursa, sitoplazmik Ca²⁺ konsantrasyonu artmaktadır. Bu artış da ölüm reseptörü Fas aracılığı ile çoklu proapoptotik yolları tetikleyen kalsiyum/kalmodulin bağımlı protein kinaz II ve sinyal iletilici ve aktivatörü transkripsiyon-1 aktivasyonuna; reaktif oksijen bileşiklerinin ve nikotinamid adenin dinükleotit fosfat artışına neden olmaktadır.^{13,14} Ciddi Ca²⁺ dengesizliği, nekroz ve nekroptozis gibi diğer tip hücre ölümlerine de neden olabilmektedir.^{15,16}

Endomembran ağ aracılığı ile ER, golgi cismi, mitokondri, lizozom, peroksizom gibi diğer organeller ile yakın bir ilişki içindedir. ER, golgi cismi ve lizozomal kompartmanlar sitokimyasal yaklaşımlar kullanılarak tanınmıştır ve bu organel ağı golgi-endoplazmik retikulum-ribozom-lizozom olarak adlandırılmıştır. Bu nedenle, bu organellerden herhangi birinde meydana gelen işlev bozukluğu, stres sinyalleri oluşturarak bütün sistem boyunca paylaşılmakta ve yayılmaktadır. Obezite ve diyabet gibi kronik hastalıklarda uzayan hücresel stresin bu işlev bozukluğundan kaynaklandığı belirtilmektedir.¹⁷⁻¹⁹

KATLANMAMIŞ PROTEİN YANITI

Salgılanan proteinler, doğru şekilde katlanmak için ER'ye girmektedir.²⁰ Proteinler, ER'den doğru şekilde katlanarak nihai hedeflerine ulaşmak üzere ayrılmaktadır.²¹ Proteinlerin katlanarak üç boyutlu bir yapı hâline gelmesi oldukça karmaşık işlemleri içermektedir. Bu karmaşık işlemlerin doğruluğundan emin olmak için, hücre çeşitli kalite kontrol

mekanizmaları geliştirmiştir. Normal şartlar altında, hatalı katlanmış proteinler, ER tarafından proteozomal degradasyonları için (ERAD) sitoplazmaya yönlendirilmektedir.²² Bununla birlikte, güçlü ve uzun süreli hücresel pertübasyonlar, aminoasit eksikliği, viral replikasyon, potansiyel toksisiteye sahip katlanmamış veya hatalı katlanmış proteinlerin varlığı gibi çok çeşitli koşullar ER homeostazını değiştirebilmekte ve ER'de strese neden olabilmektedir.²⁰ Hücresel bir yanıt olan ER stresine karşı, organel normal işlevlerine dönmek için çeşitli stratejiler kullanarak filogenetik olarak korunmuş, strese duyarlı bir sinyal yolağı olan UPR'yi aktive etmektedir.²³ UPR transkripsiyonel ve translasyonel olaylar zincirinin aktive olmasıyla gerçekleşen, hücresel stres ve ER stresi olduğunda ortaya çıkan koruyucu bir yanıttır. UPR, protein katlanma homeostazını ve proteinlerin düzgün işleyiş ve üretiminin ayarlanmasını sağlamaktadır.²⁰ Protein translasyonu, ER'de mevcut proteinlerin miktarını azaltmak için yavaşlatılmaktadır.²⁴ Proteinlerin birikmesini önlemek ve katlanmanın doğru bir şekilde gerçekleştirilmesini sağlamak için şaperon proteinler sentezlenmektedir.²⁵ Katlanmamış proteinlerin ER'de birikmesi sonucu, ER'de yerleşik şaperon kodlayan genlerin aktive olduğu bilinmektedir.²¹ ER şaperonlarının en kritik rollerinden biri, uygun olmayan etkileşimleri önleyerek proteinlerin yanlış katlanmasının ve agregasyonlarının önüne geçmektir.⁹

ER membranında yerleşik stres sensörü olarak görev yapan üç ana membran proteini bulunmaktadır. Bunlar, protein kinaz RNA (PKR) benzeri ER kinaz (PERK), aktive edici transkripsiyon faktörü 6 (ATF6) ve inositol gerektiren enzim-1 [inositol-requiring enzyme-1 (IRE-1)]'dir.^{20,26,27} Bu proteinlerin her üçü de lüminal bir ER domaini içermektedir. ER, stres altında olmadığı durumlarda, bu proteinler GRP-78 ile beraber inaktif hâlde bulunmaktadır.^{28,29} Şaperon olarak görev alan GRP-78 glikoproteini, düşük oksijen ve Ca²⁺ düzeyi gibi stres durumlarında yüksek derecede ekspres edilmektedir.^{30,31} Proteinleri hidrofobik uzantılara karşı korumakta ve yeni sentezlenmiş proteinlerin katlanmaya hazır hâlde tutulmasını sağlamaktadır.⁹

Böylece, ER'nin kararlı durumda kalmasında ve hücrelerin apoptozdan korunmasında önemli bir rol oynamaktadır.³² Ancak, hatalı katlanmış proteinlerin ER lümeninde birikmeye başlaması durumunda, GRP-78 ER membran proteinlerinden ayrılmakta ve hatalı katlanmış ya da katlanamamış proteinlere bağlanarak ATP-bağımlı katlama işlemlerine olanak sağlamaktadır. GRP78'in membran proteinlerinden ayrılmasıyla, PERK ve IRE-1'in oligomerizasyonu ve trans-otofosforilasyonu sağlanmaktadır. Böylelikle, UPR yollarının aktivasyonu gerçekleşmiş olmaktadır.^{33,34} ER membranında lokalize olan proteinlerin, stres koşulları altında ER stresini nasıl algıladığı ve UPR'yi nasıl aktive ettiği bugün hâlen belirsizliğini korumaktadır (Şekil 1).²⁰ Başlıca UPR bileşenleri ise Tablo 1'de görülmektedir.^{28,29,35-58}

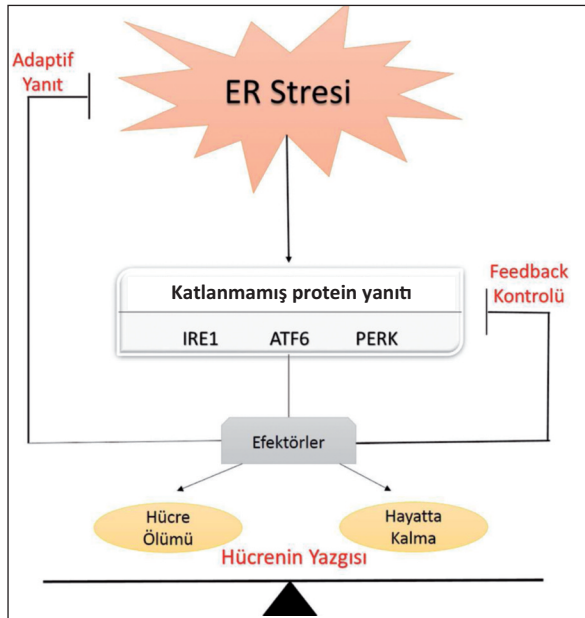
Üç farklı ER transmembran proteini olan IRE-1, PERK ve ATF6, ER lümeninde ER stresini fark etmekte ve UPR olarak adlandırılan sinyal yolak kaskatlarının aktivasyonlarını regüle etmektedir. UPR'nin üç temel işlevi adaptif yanıt, geri bildirim kontrolü ve hücrenin yazgısının belirlenmesidir. Adaptif yanıtlar altında UPR, ER stresini azaltmayı ve ER homeostazını düzenlemeyi amaçlamaktadır. UPR başarılı olarak gerçekleşir ise, UPR sinyal yolları geribildirim

kontrol mekanizması ile kapatılmaktadır. UPR aynı zamanda ER stres durumunun ciddiyetine bağlı olarak hücrenin ölüm ve hayatta kalma faktörlerini de düzenlemektedir.

İNOSİTOL GEREKTİREN ENZİM-1 (IRE-1) SİNYAL YOLAĞI

Mayalardan insanlara kadar evrimsel olarak en iyi şekilde korunmuş olan IRE-1 yolağı, hücreyi stres ve ölümden koruma aşamasında kritik bir role sahiptir.⁵⁹ IRE-1, sitozolik kinaz ve endoribonükleaz (RNaz) aktivitesine sahip, ER'de yerleşik Tip 1 transmembran proteindir. Memelilerde IRE-1 α ve IRE-1 β olmak üzere iki izoformu mevcuttur.⁶⁰ IRE-1 α , yaygın olarak eksprese olmakta ve embriyonik dönemde DNA'da gen bölgesinde bir hasar oluşursa erken ölüme neden olduğu bilinmektedir.⁶¹ Bunun aksine, IRE-1 β ise gastrointestinal epitel hücrelerde sınırlı olarak eksprese olmakta ve RNaz aktivitesi bulunmamaktadır. Her iki izoformu ER membranında lokalize olup, stres ile ilişkili sinyal yollarını devreye sokabilmektedir ve her iki protein de ER membranında sinyal iletme kapasitesine sahiptir.⁶²

IRE-1, diğer UPR yolları gibi GRP-78 ile beraber bulunduğu inaktiftir. ER stresinde GRP-78'in ayrılmasıyla, IRE-1 dimerize olmakta ve otofosforillenmektedir. Bu konformasyonel değişiklik sonrası RNaz etkili kısmı aktive olmaktadır. Aktif hâldeki IRE-1'in RNaz aktivitesi ile X-box bağlayıcı protein 1 [X-box binding protein 1 (XBP1)]'den 26 nükleotid uzaklaştırılmaktadır. Oluşan kırılmış XBP1 (XBP1-splice, XBP1s), translasyona uğrayarak transkripsiyon faktörüne dönüşmekte ve ER şaperonlarının ve katlanmaya yardımcı olan enzimlerin upregülasyonuna neden olmaktadır.⁶³ XBP1 normalde sitoplazmada bulunmaktadır, ancak kırılmamış şekildedir. XBP1s, hücre çekirdeğine girerek ERAD, lipid biyosentezi ve protein katlanmasında rol oynayan birçok hedef geni aktive etmektedir (Şekil 2).^{64,65} Ayrıca, IRE-1 α bazı prematür küçük kodlanmayan RNA moleküllerine (mikroRNA, miRNA) bağlanarak kendi mRNA düzeyini ve apoptoz mekanizmasını regüle etmektedir.⁶⁵⁻⁶⁷



ŞEKİL 1: Katlanmamış protein yanıtı.

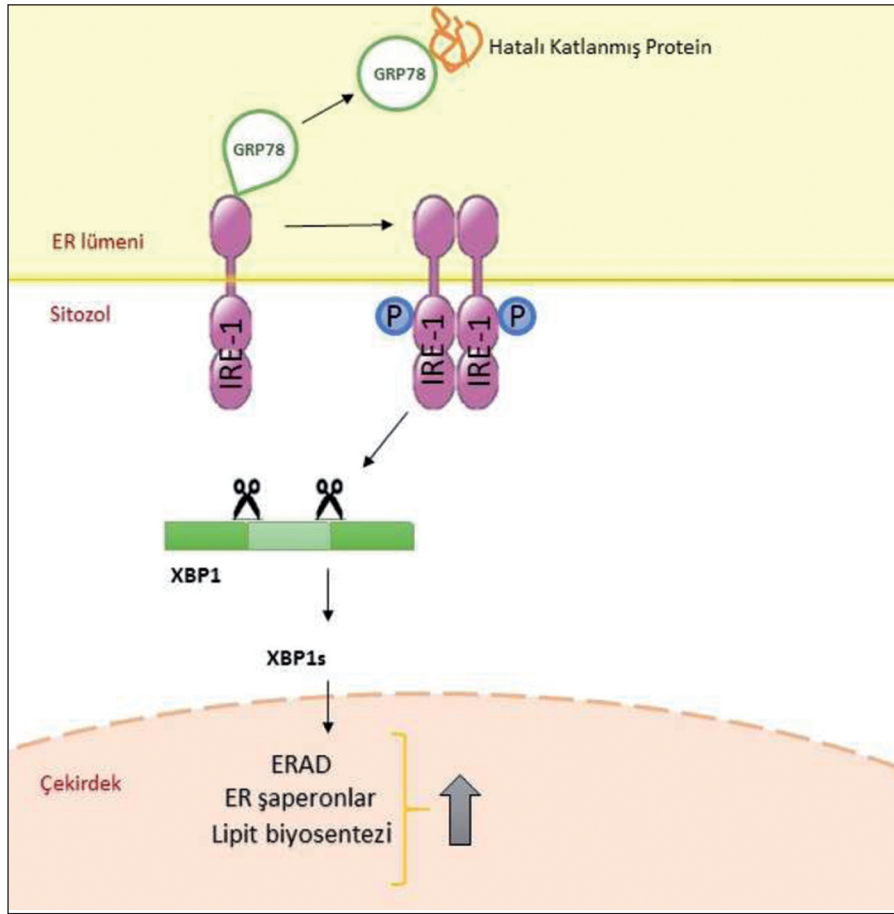
TABLO 1: Katlanmamış protein yanıtı bileşenleri.

	Protein/gen	Görevi
ER stres sensörleri	BİP (HSPA5, GRP78) ^{28,29}	UPR aktivasyonu
	IRE1/ERN1 ³⁵⁻³⁷	BP1 aktivasyonu ER-hedefli mRNA (RIDD) degradasyonuna aracılık etme TRAF2 molekülüne bağlanarak Ask1/JNK ve IKK/NF-κB yolağını aktive etme
	ATF6/ATF6 ³⁸	ER-hedefli genlerin upregülasyonunu sağlama
	PERK/EIF2AK3 ³⁹	eIF2α'nın fosforilasyonunun sağlanması ile toplam protein translasyonunu azaltarak ER homeostazisini düzenleme
Transkripsiyon faktörleri	Bip, p58IPK, ERdj4, HEDJ, PDI-P5, EDEM1, ATF6 ve CHOP ⁴⁰⁻⁴⁶	ER şaperonları indüklemeye (Bip, p58IPK, ERdj4, HEDJ, PDI-P5, EDEM1) Diğer UPR genlerini regüle etme (ATF6 ve CHOP) ER biyogenezindeki genleri regüle etme Oksidatif stres, immün yanıt ve lipogenez regüle etme
		UPR genlerini regüle etme (XBP1, BIP/GRP78, CHOP) ERAD'de yer alan proteinleri regüle etme
	ATF4/ATF4 ⁴⁷⁻⁴⁹	Stres yanıt genlerini, oksidatif stres ve anjiyogenez regüle etme
	CHOP (DDIT3) ^{50,51}	Proapoptotik ve antiapoptotik genleri regüle etmek, apoptozu başlatma GADD34 upregülasyonu ile eIF2α defosforilasyonunu indüklemeye
	CREB3L3 ⁵²	Akut faz genlerini ve inflamatuvar yanıt genlerini aktive etme
Protein translasyon regülatörleri	eIF2 ^{20,53}	eIF2B inhibisyonu ile genel protein sentezini bloke etme ER stresi sırasında ATF4 ve CHOP translasyonunu artırma
ER şaperonları	BİP ⁵⁴	Katlanmamış veya hatalı katlanmış proteinlere bağlanarak proteinlerin katlanmasına yardımcı olma
	CANX ⁵⁵	Oligosakkaritleri tanıyarak glikozile proteinlerin katlanmasına yardımcı olma
	CALR ⁵⁶	Glikozile proteinlerin katlanmasına yardımcı olmak ve kalite kontrolü sağlama
	PDI/PDIA2 ⁵⁷	Disülfid bağ oluşumunu katalizleme
	ERdj5 ⁵⁸	Disülfid redüktaz olarak işlev görerek, ER'de hatalı katlanmış proteinlerin degradasyonunu sağlama

ATF4: Aktive edici transkripsiyon faktörü 4; ATF6: Aktive edici transkripsiyon faktörü 6; Ask: Apoptoz sinyali regüle edici kinaz; BİP: Bağlayıcı immünglobülin protein; CALR: Kalretikulin; CANX: Kalneksin; CHOP: CCAAT-artırıcı bağlayıcı protein homolog proteini; CREB3L3: CAMP cevap elemanı bağlayıcı protein 3 benzeri 3; DDIT3: DNA hasarı indüklenebilir transkript 3; EDEM1: Endoplazmik retikulum degradasyonu artırıcı alfa mannosidaz benzeri 1; eIF2A: Ökaryotik translasyon başlatma faktörü 2A; EIF2AK3: Ökaryotik translasyon başlatma faktörü 2-alfa kinaz 2; ERdj4: Endoplazmik retikulum DNA J-domain içeren protein 4; ERdj5: Endoplazmik retikulum DNA J-domain içeren protein 5; GADD34: Büyümenin durdurulması ve DNA hasarı indüklenebilir protein 34; GRP78: 78 kDa glikoz-regüle protein; HEDJ: Isı şoku proteini 40 ko-şaperonu; IKK: IκB kinaz; IRE-1: inositol gerektiren enzim-1; HSPA5: Isı şoku protein ailesi üyesi 5; JNK: c-Jun NH(2)-terminal kinaz; NF-κB: Aktive B hücrelerinin nükleer faktör kappa B hafif zincir artırıcı; PERK: Protein kinaz RNA benzeri ER kinaz; PDI/PDIA2: Protein disülfid izomeraz/protein disülfid izomeraz ailesi üyesi 2; PDI-P5: Protein disülfid izomeraz P5; TRAF2: Tümör nekrozis faktörü (TNF) asosiyasyon faktörü 2; XBP1: X box bağlayıcı protein 1.

XBP1, potent bazik lösin fermuar transkripsiyon faktörü olup, ER şaperonlarının indüksiyonu yolu ile ER stresine adaptif yanıtın ana düzenleyicisi olarak işlev görmektedir. XBP1 eksikliği olan hücreler, oksidatif strese ve inflamasyon kaynaklı hücre ölümlerine karşı daha hassastır.^{43,44,68} Ayrıca XBP1, ER biyogenez, fetal gelişim, lipogenez, adipogenez ve diğer önemli hücresel süreçlerde önemli bir rol oynamaktadır.⁴²

ER stresi sırasında, IRE-1, ER-hedefli mRNA'ların degradasyonuna aracılık ederek, ER'de yeni sentezlenmiş proteinlerin yükünü azaltmaya yardımcı olmaktadır. UPR'nin bu yolağı IRE1-bağımlı çürüme [Regulated Ire1-dependent decay (RIDD)] olarak adlandırılmaktadır.⁶⁹ RIDD, ayrıca miRNA üretimini ve dejenerasyonunu düzenlerken, post-transkripsiyonel düzeyde hedef proteinlerin regülasyonunu da düzenlemektedir.⁷⁰



ŞEKİL 2: İnositol gerektiren enzim-1'in sinyal yolağı.

ER: Endoplazmik retikulum; ERAD: Endoplazmik retikulum ilişkili degradasyon mekanizması.

PROTEİN KİNAZ RNA (PKR) BENZERİ ENDOPLAZMİK RETİKULUM KİNAZ (PERK) SİNYAL YOLAĞI

Serin/treonin protein kinaz aktivitesine sahip olan PERK, Tip 1 transmembran proteinidir. IRE-1 α ile yapısal ve işlevsel yönden benzerlik göstermektedir. Ancak, sیتozolik kısmında RNaz aktivitesi bulunmamaktadır.^{71,72} Aktive olan PERK, ökaryotik başlatıcı faktör α [eukaryotic initiation factor 2 (eIF2 α)]'nın 51. pozisyonundaki serini fosforiller. Guanozin difosfatın guanozin trifosfat (GTP) ile yer değiştirmesini sağlayan bir protein olan ökaryotik başlatıcı faktör β (eIF2 β), eIF2 α 'ya GTP'yi takamakta ve böylece translasyonun başlangıç kompleksinin (eIF2 α /GTP/Met-tRNA_i) oluşumu engellenmektedir.^{71,72} PERK, ER stresi altında mRNA translasyonunu zayıflatarak ER'ye binen iş yükünü azaltan ve yeni sentezlenen proteinlerin

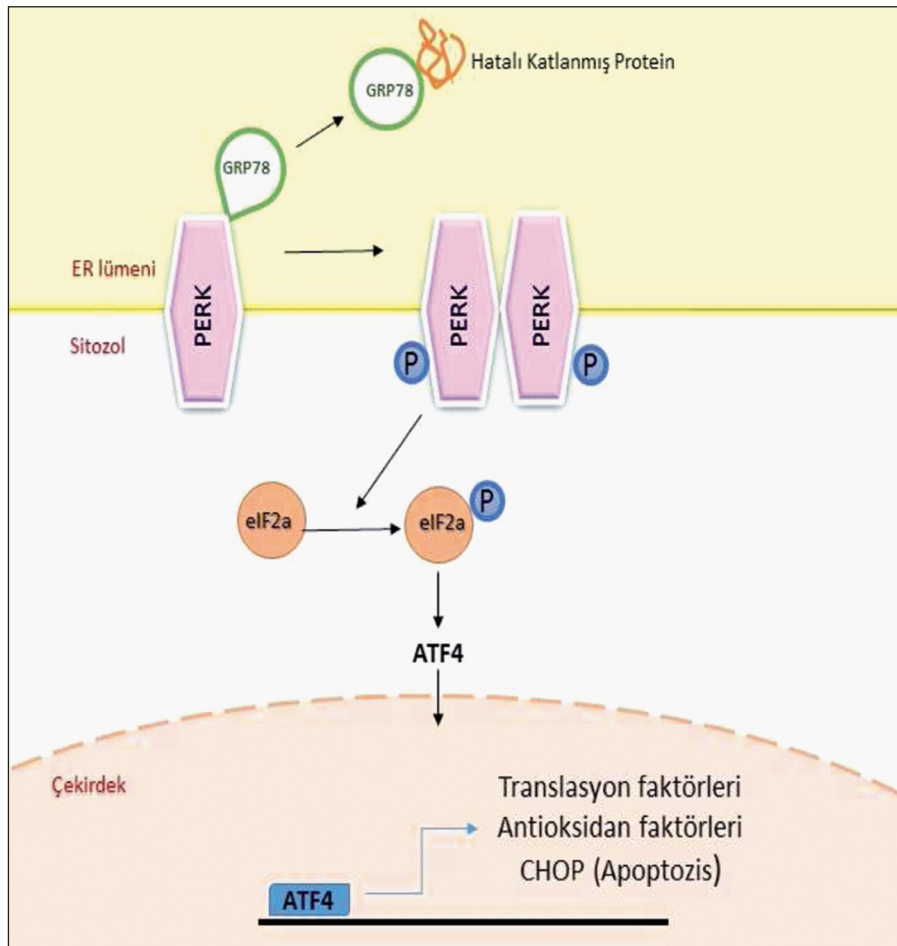
stres altındaki ER'ye girişini önlemekten sorumlu önemli bir proteindir. Bu translasyonel zayıflamaya, eIF2 α 'nın fosforilasyonu aracılık etmektedir.⁷³ eIF2 α 'nın fosforilasyonu, genel olarak translasyonu zayıflatır iken, ER'nin kapasitesini artırarak stresini azaltan "aktive edici transkripsiyon faktörü-4 [activating transcription factor-4 (ATF-4)] gibi belirli mRNA'ların ekspresyonunu indüklemektedir. ATF-4, cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein [response element binding protein (CREB)] ailesine bağlıdır. ATF-4 bazı ER şaperon proteinlerin ve UPR ile ilişkili transkripsiyon faktör genlerin transkripsiyonunu indüklediği gibi, aynı zamanda ATF-6'yı ER'den golgi cismine aktarmaktadır.⁷⁴ ATF-4 cAMP yanıt elemanına (cAMP response element, CRE) bağlanmakta ve CAAT/artırıcı bağlayıcı proteini [enhancer binding protein (C/EBP7ATF)] cevap elemanına bağlanarak hücrel stres, oksidatif stres ve apoptozdan so-

rumlu genleri regüle etmektedir.⁷⁵⁻⁷⁷ ATF-4'ün en iyi çalışılmış hedef genleri ER stresi sırasında, C/EBP homolog protein-10 (CHOP-10) ve DNA-hasar-indüklenebilir geni 153 (*GADD153*) tür. CCAAT-artırıcı bağlayıcı protein homolog proteini (CHOP) sinyalinin indüksiyonu, stres altındaki hücrelerin apoptoza girmesine neden olmaktadır. Her üç UPR yolağı, CHOP'yi aktive etme yeteneğine sahiptir. ATF-4, CHOP transkripsiyonunu uyaran en önemli transkripsiyon faktörüdür. Ek olarak, CHOP, eIF2 α fosforilasyonu ile de regüle edilebilmektedir.⁷⁸ Buna karşılık, DNA hasarı indüklenebilir protein 34 (DNA damage-inducible protein 34, *GADD34*) indüksiyonuyla, CHOP eIF-2 α 'nın defosforilasyonunu aktive etmektedir. Bunun bir sonucu olarak, eIF-2 α fosforilasyonu ile ER'de translasyon durduru-

lamaz ve protein sentezi devam etmektedir. Böylelikle, ER'de artmış protein yükü oluşarak, hücre apoptoz yolacağına girmektedir (Şekil 3).⁵⁰

AKTİVE EDİCİ TRANSKRİPSİYON FAKTÖRÜ 6 SİNYAL YOLAĞI

ATF6 Tip-2 transmembran proteindir. CREB/ATF6 bZIP transkripsiyon faktör domainine sahip bir N-terminal ucu ve ER lümeninde lokalize olan çoklu yapısal domaine sahip C-terminal ucu bulunmaktadır. Memelilerde ATF6'nın genellikle ATF6 α ve ATF6 β olmak üzere iki alt tipi mevcuttur.⁴⁵ ER stresi koşullarında ATF6 GRP-78'den ayrılır. Ancak, bu noktada IRE-1 ve PERK'nin aksine ATF6 golgi cismine göç etmektedir. Golgi cismine taşınan ATF6, site 1 ve site 2 proteazlar tarafından iki parçaya kesilerek aktive olmaktadır.⁴⁰



ŞEKİL 3: Protein kinaz RNA benzeri ER kinaz sinyal yolağı.

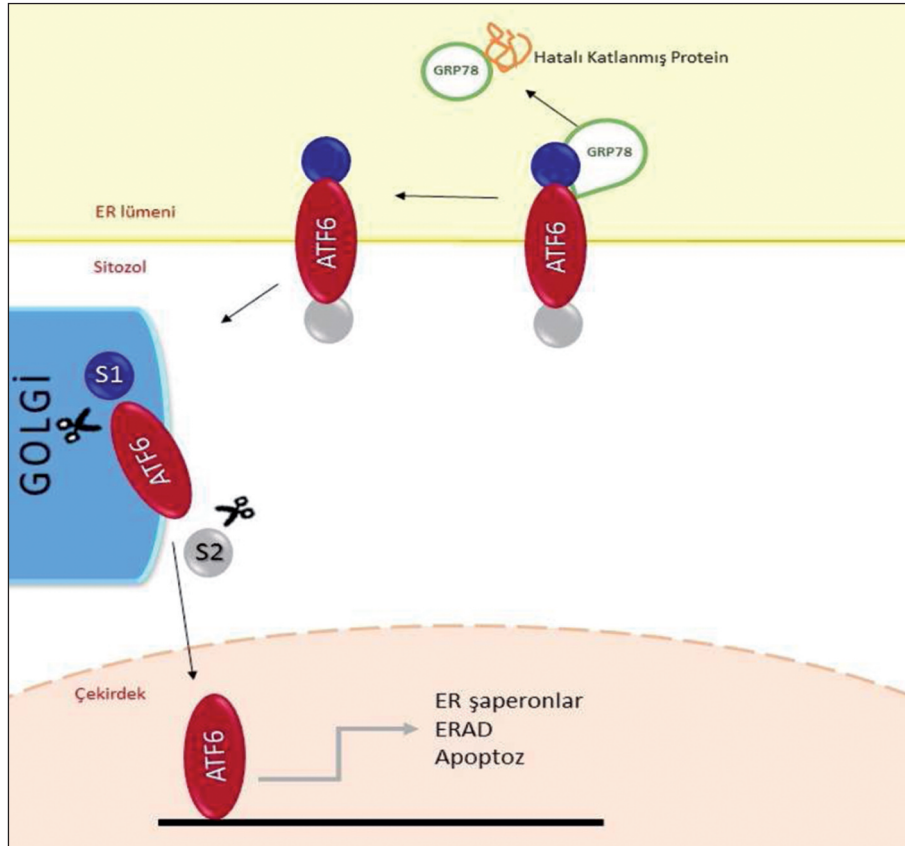
ER: Endoplazmik retikulum; PERK: Protein kinaz RNA benzeri endoplazmik retikulum kinaz; CHOP: CCAAT-artırıcı bağlayıcı protein homolog proteini.

Kesilerek ayrılan bir parça aktif bir transkripsiyon faktörüne dönüşmektedir. Bu transkripsiyon faktörü çekirdeğe doğru yol alarak, ERAD ve apoptozda rol oynamaktadır. ATF6, aynı zamanda XBP1'e bağlanmakta ve XBP1'in ve GRP-78 gibi diğer şaperonların ekspresyonunu artmaktadır. Ardından, ER stres yanıt elemanı-1 (ERSE-1) ve ERSE-2, UPR elemanı ve cAMP yanıt elemanı (CRE) genlerinin transkripsiyonunu desteklemek için çekirdeğe doğru yer değiştirmektedir. ATF6, XBP1'in ifadesini regüle ettiği gibi, XBP1 proteinine doğrudan bağlanarak, UPR ile ilişkili proteinlerin ekspresyonunu desteklemektedir. Sonuç olarak, tüm süreçler ER'de hasar yaratan, hatalı katlanmış ve katlanmamış proteinlerin birikimini azaltmaktadır. Yamamoto ve ark., memeli ATF6 α ana ER şaperonlarının, transkripsiyonel indüksiyonda ve ana ERAD bileşenlerinin indüksiyonunda gerekli olduğunu belirtmişlerdir.⁴⁵ ATF6 α yokluğu veya eksikliği olan farelerde normal embriyo-

nik/postnatal gelişim gözlenirken, ATF6 α ve ATF6 β 'nın her ikisinin de eksikliği durumunda embriyonik ölümlerin olduğu bildirilmiştir (Şekil 4).^{45,79}

KATLANMAMIŞ PROTEİN YANITI-ARACILI APOPTOZ

Hatalı katlanmış proteinlerin birikiminin ve ER stresinin üstesinden gelmek için UPR yolağı aktive olmaktadır. Eğer hatalı katlanmış protein miktarı çok fazla olur ve stres devam eder ise UPR'nin aktivasyonu ER stresine baş etmek için yetersiz kalabilmektedir. Uzun süreli UPR aktivasyonunun ve ER stres yanıtlarının oluşmamasının bir sonucu olarak, otofajik programlar veya apoptoz aktivasyonu ile hücre ölümü gerçekleşebilmektedir. UPR-aracılı apoptozun mitokondride pro-apoptotik Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) ailesinin üyeleri olan Bax ve Bak ekspresyonlarındaki artış ve sitokrom c'nin "down-



ŞEKİL 4: Aktive edici transkripsiyon faktörü 6 sinyal yolağı.

ER: Endoplazmik retikulum; ATF6: Aktive edici transkripsiyon faktörü 6; ERAD: Endoplazmik retikulum ilişkili degradasyon mekanizması.

stream” kaspaz aktivasyonu yapmasıyla tetiklendiği bilinmektedir. ER stresiyle indüklenen apoptoz, transkripsiyon faktörleri (CHOP), Bcl-2 ailesinin üyeleri, kinazlar (JNK) ve kaspazlar aracılığı ile meydana gelmektedir.⁸⁰ PERK, ATF6 ve IRE-1 sinyal yolları stres koşulları altında, ER'nin homeostazına katkıda bulunduğu gibi, apoptoz yollarını da indüklemektedir.⁸¹ PERK ve eIF2 α yolları, aynı zamanda ER stresi kaynaklı apoptozun ana regülatörü olarak kabul edilen, proapoptotik transkripsiyon faktörü CHOP'yi indüklemektedir.⁸² CHOP ekspresyonunun artması, programlı hücre ölümüne yol açmaktadır. CHOP'nin proapoptotik olduğu gösterilmiştir. ER stresinde de ekspresyonu artmaktadır. ER stres koşulları altında iken, en yüksek oranda indüklenebilen genler arasında CHOP'nin yer aldığı bilinmektedir.⁸³ CHOP, büyümenin durdurulmasında rol alan GADD34 ve ER oksidoredüktaz-1 gibi transkripsiyon faktörlerini tetiklemektedir.^{84,85} Ayrıca, CHOP p53 apoptozun upregüle modülatörü [p53 up-regulated modulator of apoptosis (PUMA)] ve proapoptotik BH3-tek protein Bim düzeylerini artırır iken, hücrenin hayatta kalmasını sağlayan bir protein olan Bcl-2'nin transkripsiyonunu azalmaktadır.⁸⁶

IRE1 α , aynı zamanda tümör nekrozis faktör reseptör-assosiyatif faktör 2 [tumour necrosis factor receptor associated factor 2 (TRAF2)]'ye bağlanarak, c-Jun N-terminal kinaz (JNK) yolağını ve apoptoz sinyal regüle edici kinazı aktive etmektedir. JNK yolağı, kaspaz 12'nin aktivasyonu ve Bcl-2'nin antiapoptotik fonksiyonunun inhibisyonu dâhil olmak üzere, farklı mekanizmalar ile apoptoza yol açmaktadır. Bir diğer yolak ise Bax ve Bac'ye bağlanması ile apoptozun mitokondriyal aktivasyonunu başlatarak hücre ölümüne neden olmasıdır.⁸⁷ ER stresi ile apoptozun indüksiyonu, organizmayı koruyucu bir mekanizma teşkil etmektedir. Ancak, bu yolağın daha detaylı moleküler mekanizmaları tam olarak anlaşılmalıdır (Şekil 5).

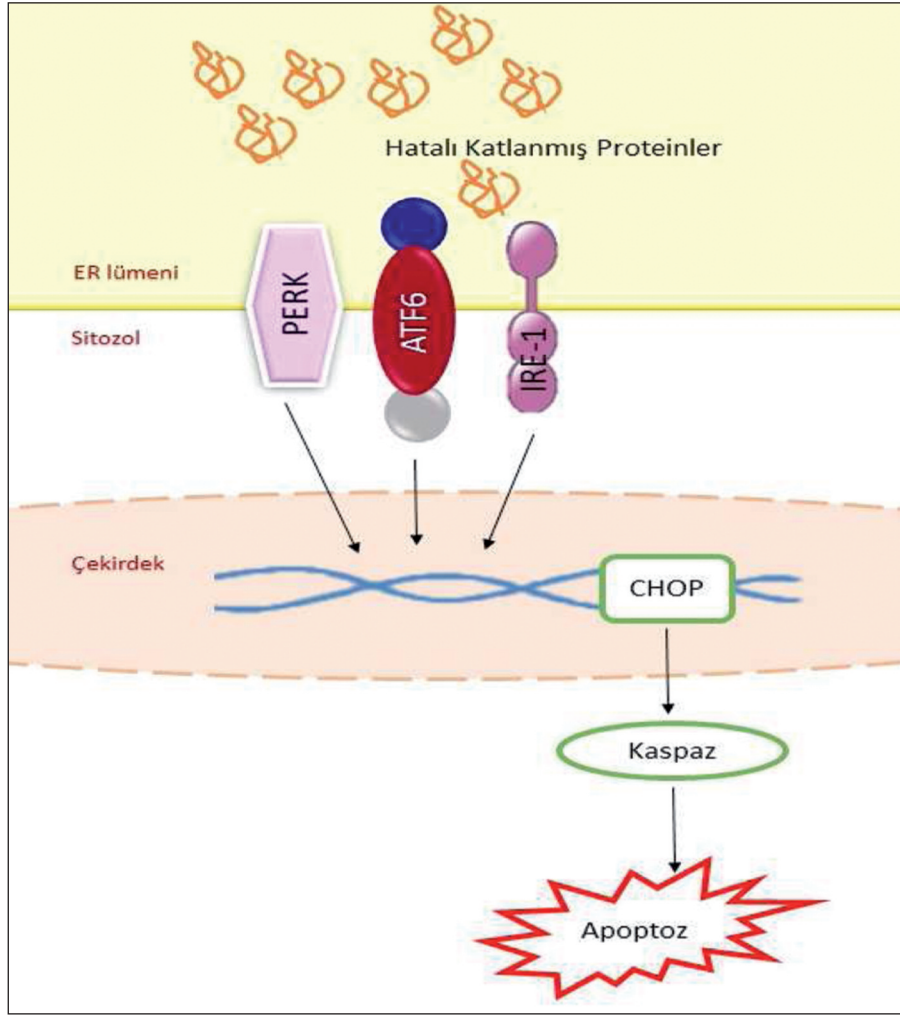
ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRESİ VE OBEZİTE İLE İLİŞKİSİ

Kanser, diyabet, Alzheimer hastalığı gibi pek çok hastalık yanlış katlanan proteinlerle; damar sertliği ve obezite gibi birtakım hastalıklarda lipit me-

tabolizmasıyla ilişkili olduğu için, ER tüm bu hastalıkların odağında yer almaktadır.⁸⁸ Bugün, ER stresinin tetiklediği birçok hastalık olduğu bilinmektedir. Bunların arasında nörodejeneratif hastalıkları, iskemi/reperfüzyon hasarı nedeni ile ortaya çıkan hastalıkları ve metabolik hastalıkları (Tip 2 diyabet ve obezite) saymak mümkündür.⁸⁹

Obezite, erişkinlerde beden kitle indeksi (BKİ) nin 30 kg/m²'den daha büyük ya da vücut yağ oranının erkeklerde %25'ten, kadınlarda ise %30'dan fazla olması durumudur.^{90,91} Yakın zamanlarda yapılan çalışmalarda, obezitenin neden olduğu patolojik durumların en önemli nedenlerinden birinin ER stresi ve JNK aktivasyonu ile inflamatuvar yanıt ve periferik insülin direncinin tetiklenmesi olduğu belirlenmiştir.^{92,93}

Kronik ER stresi, insülin ve leptin direncine, inflamasyona, β -hücrelerinin deformasyonuna ve apoptoza neden olarak obezite ve diyabet başta olmak üzere pek çok metabolik hastalığa yol açabilmektedir. ER stresi sonucu ektopik yağ depoları glukoz taşınımını ve insülin sinyallerini engellemekte ve insülindeki bu değişimle birlikte iskelet kasında yağ birikmektedir.⁹⁴ Leptin, 16 kDa ağırlığında ve heliks yapıda bir protein olup, *ob* geninin ürünüdür.⁹⁵ Leptin, hipotalamustaki reseptörleri aracılığıyla yiyecek alımını ve enerji metabolizmasını negatif geri bildirim ile düzenlemekte ve obezite gelişimini engellemektedir.⁹⁶ Leptinin başlıca üretim yeri yağ hücreleridir.⁹⁷ Leptin, hücrede yağ asidi sentezleyen enzimlerin (malonil-CoA, kartinil açıl transferaz-I) inhibisyonunu sağlamakta, mitokondriyal β -oksidasyonunu azaltmakta ve yağ asidi kullanımını artırarak hücre içi yağ asidi konsantrasyonunu azaltmaktadır. Leptinin plazma kolesterol, trigliserid ve glukoz düzeyini azalttığı saptanmıştır. Artmış ER stres ve UPR'nin, obezite hastalarının hipotalamusunda leptin reseptör sinyalini inhibe ettiği gösterilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, ER stresinin leptin direncine neden olarak obeziteye yol açtığı belirlenmiştir.⁹⁸ Hem genetik, hem de diyetle ilişkili olarak geliştirilen obezite modellerinin hipotalamustaki ER stres protein ekspresyonlarının artışıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir.⁵²



ŞEKİL 5: Endoplazmik retikulum stresi ile apoptoz arasındaki ilişki.

ER: Endoplazmik retikulum; PERK: Protein kinaz RNA benzeri endoplazmik retikulum kinaz; CHOP: CCAAT-artırıcı bağlayıcı protein homolog proteini.

Birçok in vitro ve in vivo çalışmada, hipotalamusta meydana gelen ER stresinin leptin direncine neden olduğu ve obezite gelişimiyle arasında doğrudan bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Örneğin; hücre kültürleri ve hipotalamusa ait organotipik örnekler ER stres uyarıcılarına maruz bırakıldığında (tunikamisin, thapsigargin, brefeldin A veya ditiyotreitil), leptin tarafından başlatılan STAT3 fosforilasyonunun inhibe olduğu görülmüştür. Diğer taraftan, bu ER stres faktörleri farelere intraserebroventriküler uygulama ile verildiğinde hipotalamusta ER stresi oluştuğu ve leptin direnci sonrası besin alımının artışına bağlı olarak ağırlıklarının arttığı gözlenmiştir.⁹⁹

Aşağıda obezite ve ER stresi arasındaki ilişkinin değerlendirildiği hücre kültürü, hayvan ve insan çalışmalarından söz edilmiştir.

OBEZİTEDE ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRESİNİN İNDÜKLENMESİ

1. HÜCRE KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARI

Obezite ile ER stresi arasındaki ilişkiyi inceleyen sınırlı sayıda hücre kültürü çalışması bulunmaktadır. Bu çalışmaların bir kısmında, ek olarak hayvan çalışmaları da yapılmıştır. Hayvan çalışmalarının sonuçları "Hayvan Çalışmaları" bölümünde değerlendirilmiştir.

Osteokalsin, sentetik bir osteoblast-spesifik proteindir. Osteokalsinin enerji metabolizmasında önemli bir rolü olduğu belirlenmiş; ancak bu etkinin altında yatan mekanizmalar aydınlatılamamıştır. 3T3-L1 adipozitleri, Fao karaciğer hücreleri ve L6 kas hücreleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, osteokalsin uygulamasının (5 ng/mL, 4 saat) belirgin bir şekilde ER stresini azalttığı ve insülin hassasiyetini artırdığı belirlenmiştir. Bu etkiler nükleer faktör- κ B (NF- κ B) veya fosfatatidilinositol 3-kinaz bloke edildiğinde ortadan kalkmıştır. Bu da fosfatatidilinositol 3-kinaz/NF- κ B yolaklarının osteokalsinin etkinliğinde rolü olduğunu belirtmektedir.¹⁰⁰

Genç (dört-altı aylık) ve yaşlı (18-22 aylık) C57BL/6 farelerden epididimal dokusu kullanılarak elde edilen adipoz doku stromal hücreler üzerinde yapılan bir çalışmada, hücrelere taşıyıcı (dimetil sülfoksit) veya ER stresini indüklemek için thapsigargin (330 nM) 4-16 saat boyunca uygulanmış ve bu süreler sonunda hücre kültürü medyumunu ve sonrasında da hücreler toplanarak ER stres proteinlerine ait mRNA ve protein düzeyleri belirlenmiştir. Çalışma sonunda; GRP78, CHOP, yarılmış-ATF-6, fosfo-IRE1 α , PDIA, EDEM1 ve ERdj4 ve XBP-1 mRNA düzeylerinin yaşlı hayvanlardan elde edilen hücrelerde genç hayvanlara göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Diğer taraftan, thapsigargin uygulamasının yaşlı hayvanlardan elde edilen hücrelerde BIP, CHOP, p-IRE1 α , XBP-1, GADD34 ve ATF-6 protein düzeylerini daha fazla artırarak, ER stresini daha çok indüklediği belirlenmiştir.¹⁰¹

HepG2 hücreleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, *Cudrania tricuspidata* yaprak (CTL) ekstraktındaki kaempferolün (CTL içindeki konsantrasyonu 5,07 \pm 0,08 mg/g) ER-stresiyle indüklenen inflamasyon üzerine etkisi araştırılmıştır. HepG2 hücreleri 300 μ g/mL CTL, 500 μ g/mL CTL, 1,5 μ g/mL of kaempferol veya 2,5 μ g/mL kaempferol kullanılarak inkübe edilmiş; takiben ER stresini indüklemek için 100 nM thapsigargin 24 saat maruz bırakılmışlardır. Kaempferolün kısmi olarak ER yanıtını ve inflamasyonu inhibe ettiği bulunmuştur. Kontrole göre thapsigargin uygulanan grupta insülin reseptör 1 (IRS-1) serin fosforilasyonunun ve

C/EBP α ve glukoneojenit genlerin ekspresyonlarının arttığı belirlenmiştir. CTL ve kaempferol uygulanan hücrelere thapsigargin uygulaması ise IRS-1'in serin fosforilasyonunun süprese olduğu; ancak C/EBP α /glukoneojenik gen yolağının etkilendiği gözlenmiştir. Bu sonuçlar, kaempferolün CTL içindeki aktif bileşen olduğunu ve ER stresine indüklenen inflamasyon ve hiperglisemiye karşı koruyucu olabileceğini göstermektedir.¹⁰²

Dehidroaskorbik asit (DHAA) vitamin C'nin okside türevidir ve diyabette bu türevin biyolojik sıvılardaki miktarının arttığı bilinmektedir. İnsan nöroblastoma hücreleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, DHAA'nın ER stresi ve leptin rezistansı üzerine etkileri incelenmiştir. İnsan nöroblastoma hücreleri ob-Rb leptin reseptörü ile transfekte edilmiş ve DHAA (1mM)'ya maruz bırakılmıştır. DHAA uygulamasının ER stresi ile ilgili GRP-78, CHOP ve XBP1 gibi proteinlerin ekspresyonunu artırdığı belirlenmiştir. Sonuçta, DHAA uygulamasının nöronlara toksik olduğu ve hatalı leptin yanıtı sinyalleşmesine neden olabileceği belirtilmiştir.¹⁰³

Hsu ve ark.nın çalışmasında, kardiyomyoblast (H9C2) hücrelerine palmitat uygulamasının etkileri incelenmiştir. Yüksek doz palmitat (400 μ M) uygulamasının kardiyomyoblastlarda otofagozomların ve vakuollerin sayısını artırdığı belirlenmiştir. Ayrıca, otofajinin indikatörleri olan LC3-II ve p62 ekspresyonları ve apoptozun indikatörü olan PARP yarılması artmıştır. Otofajinin rapamisinle indüksiyonu palmitatla indüklenen apoptozu azaltmış; otofajinin 3-metiladenin ve LC3 siRNA'lar ile inhibisyonu palmitatla indüklenen apoptozu artırmıştır. Palmitat uygulamasının ER stresinin bir göstergesi olan CHOP ekspresyonunu da indüklediği görülmüştür. Sonuçta otofaji mekanizmasındaki bir bozulmanın ER stresi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir.¹⁰⁴

2. HAYVAN ÇALIŞMALARI

ER stresinin önemli göstergeleri arasında PERK ve eIF2 α 'nın fosforilasyonu yer almaktadır.⁹⁸ Özcan ve ark., ER stresin obezitedeki değişimini incelemek için genetik olarak obez olmaya yatkın farelere (*ob/ob*) 16 hafta süresince yüksek yağlı diyet uygulanmış ve çeşitli ER stres indikatörlerinin ekspres-

yonlarını incelemişlerdir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, obez farelerin karaciğerlerinde PERK ve eIF2 α fosforilasyonunun artmış olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, ER stresi durumunda ekspresyonu artan bir ER şaperonu olan ve ekspresyonu glukoza duyarlı olan GRP-78'in mRNA düzeyleri kontrol grubuna göre obez farelerin karaciğer dokusunda daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca; karaciğerde, PERK ekspresyonu, PERK fosforilasyonu ve JNK ekspresyonunun arttığı belirlenmiştir.⁹³

Yang ve ark.nın, *ob/ob* ve C57BL/6J fareler kullanarak yaptıkları çalışmada, hayvanlara süttten kesildikten hemen sonra yağlı diyet uygulanmaya başlanmıştır. Diyet uygulamasını takip eden yedi-10. günlerde glukoz ve insülin testleri yapılmaya başlanmıştır ve bir kısım hayvana insülin enjeksiyonu yapılmıştır. Normal kilodaki farelere göre *ob/ob* farelerde otofajiyile ilgili olan proteinlerin (Atg) ekspresyonlarının düşük olduğu belirlenmiştir. Özellikle, Atg7 proteinin *ob/ob* farelerde düşük derecede eksprese olduğu ve ER stresinin ortaya çıktığı görülmüştür. Hepatik otofajinin restorasyonunun adenovirüs enjeksiyonu sonrası sağlanması ile bu farelerde glukoz homeostazı düzelmiş; insülinin etkinliği artmış ve ER stresi (PERK, CHOP, Grp78, PDI, GADD34, ERdj4, HERP ekspresyonlarında görülen azalmalar ile değerlendirilmiştir) azalmıştır.¹⁰⁵

Yüksek yağla beslenen ve osteokalsin alan fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, bu farelerin vücut ağırlıklarındaki artışın osteokalsin (implant ile 3 ng/saat) uygulamasıyla azaldığı, insülin hassasiyetlerinin ve enerji harcamalarının arttığı belirlenmiştir. Ayrıca, obezitede osteokalsin uygulamasının ER stresini, hatalı insülin sinyalleşmesini ve obezite ile indüklenen mitokondriyal işlev bozukluğunu etkin bir şekilde azalttığı bulunmuştur.¹⁰⁰

Üç farklı fare modeli (yüksek yağlı diyetle beslenen C57BL6 fareleri; apolipoprotein E, leptin, ve apolipoprotein B-48 eksikliği olan ApoE 3KO fareleri ve düşük dansiteli lipoprotein reseptörü, leptin ve apolipoprotein B-48 eksikliği olan LDLR 3KO fareleri) üzerinde yapılan bir çalışmada, ER stresinin C57BL6 ve ApoE 3KO farelerinde yüksek olduğu; ancak LDLR 3KO farelerinde diğer iki tip

fareye oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Yüksek yağlı diyetle beslenen C57BL6 ve ApoE 3KO farelerde hiperglisemi gözlenirken, LDLR 3KO farelerinde normal glisemi saptanmıştır. Bu da hipergliseminin hipokampüste ER stresini indüklenmesinde bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Ayrıca, insülin sinyalleşmesi sadece yağlı diyetle beslenen C57BL6 ve ApoE 3KO farelerde gözlenmiştir ki bu da ER sinyalleşmesinin hipokampüste gözlenen insülin rezistansında ER stresinin rol oynayabileceğine işaret etmektedir.¹⁰⁶

Bir diğer çalışmada, erkek C57BL/6J fareler yüksek yağlı diyet ile beslenmiş; takiben yağ dokularında obeziteyle indüklenen, sirkülasyonu artan ve yağ lipolizinde görevi olan bir protein olan SERTA domain içeren 2 (SERTA domain containing 2, TRIP-Br2) ekspresyonu belirlenmiştir. TRIP-Br2 ekspresyonu viseral yağda artar iken, subkütan yağ dokusunda artmadığı bulunmuştur. Adipositlerde, transfeksiyon ile TRIP-Br2'nin ablasyonunun hem kimyasal hem de fizyolojik olarak ER-stresle indüklenen inflamatuvar ve akut faz yanıtını azalttığı ve bunun da inflamatuvar sitokinlerin dolaşımdaki miktarının azalmasını sağladığı belirtilmiştir.¹⁰⁷

Bilindiği gibi, aşırı yağ alımı obezite ve kardiyak hasara neden olmaktadır. Bunun nedeni yağların intraselüler degradasyonunun uzun süreli var olan proteinlerde ve organellerde hasar oluşturması ve hücrel homeostazı bozmasıdır. Yapılan bir çalışmada, yüksek yağlı diyetle beslenen C57BL/6 farelerde apoptozun bir indikatörü olan PARP yarılmaması; otofajinin indikatörleri olan LC3-II ve p62 düzeyleri ve ER stresinin indikatörü olan CHOP düzeyleri ölçülmüştür. Yüksek yağlı diyetin tüm ölçülen indikatörlerin düzeylerini artırdığı saptanmıştır.¹⁰⁴

Obez Kyoji Kondo farelerinde (obezite geni A ν taşıyan, glikoz intoleransı olan ve ilerleyen yaşla obezite görülen) yapılan bir çalışmada, fareler diyet içinde sekiz hafta boyunca balık yağı (%10) ve/veya bir antidiyabetik olan pioglitazon (%0,012) almışlardır. Kombine dozlama sonrasında pankreatik adacıklarda hipertrofinin süprese olduğu ve kontrole göre ortalama adacık alanının %49 azaldığı; sadece pioglitazon alan farelerde ortalama adacık

alanının %32, balık yağı alanlarda ise %21 azaldığı bulunmuştur. Sonuçta, hem kombine hem de tekli uygulamanın β -hücre disfonksiyonunu önleyerek insülin rezistansında bir düşüş sağladığı ve ER stresini (CHOP ekspresyonunun düşüş sağlayarak) azalttığı bildirilmiştir.¹⁰⁸

3. İNSAN ÇALIŞMALARI

Son dönemlerdeki araştırmalar obezitenin insülin direncine zemin hazırladığını göstermektedir.¹⁰² Kemiricilerde ER stresinin obezite ve metabolik disfonksiyonla ilişkisi olduğu bilinmesine rağmen, kilo kaybı sonucunda ER stres parametrelerinin nasıl değiştiğini inceleyen az sayıda çalışma bulunmaktadır. Özellikle, insanlarda obezite ve ER stresi arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların çok az sayıda olduğu görülmektedir.

Gregor ve Hotamışlıgil, obez bireylerde kilo kaybı sonrası stres yollarında değişiklik olup olmadığını araştırmışlardır. Bu çalışmaya bir yıl veya daha uzun süre gastrik baypas (GBP) ameliyatı geçirmiş gönüllü bireyler (ortalama BKİ): 51,3±3 kg/m²; iki erkek, dokuz kadın] katılmıştır. Bütün gönüllüler detaylı hastalık geçmişleri ve fiziksel egzersiz sıklıkları, rutin kan testleri ve elektrokardiyogram gibi testleri tamamlamışlardır. Hiçbir gönüllü diyabet veya diğer metabolik hastalıklara sahip olmayıp, ayrıca yağ asidi metabolizmasını etkileyecek ilaç kullanmamıştır. Hastaların insülin hassasiyeti hiperinsülinemik öglisemik kelepçe kullanılarak, ameliyat geçirmesinden bir yıl önce ve sonra ölçülmüştür; adipoz ve karaciğer doku örneklerindeki ER stresi belirteçleri analiz edilmiştir. Subkütan abdominal adipoz dokudaki UPR yanıtı GBP ameliyatı öncesi ve sonrasında incelenmiştir. ER stres ve adaptif yanıtlarda önemli bir indikatör ve transkripsiyon faktörü olan XBP1 mRNA bağlanması izlenmiştir. Bilindiği gibi, XBP1 proteinlerin yanlış katlandığını algılayan ve bu durumu düzeltebilecek yanıtlar üretmektedir. Dokulardaki spliced XBP mRNA seviyesi GBP'den önceki miktarıyla karşılaştırıldığında ortalama %47,5 azalma göstermiştir.¹⁰⁹

Kars ve ark.nın çalışmasında, 20 (yaş: 48±11; BKİ: 37±4 4 kg/m²) obez hasta randomize olarak iki gruba ayrılmış; bir gruba dört hafta boyunca pla-

sebo uygulanır iken, diğer gruba dört hafta 1,750 mg/gün dozda bir safra asidi türevi olan ve protein katlanmasını artıran ve ER stresini azaltan bir kimyasal şaperon olan tauroursodeoksikolik asit [tauroursodeoxy-cholic acid (TUDCA)] uygulanmıştır. Çalışmaya katılanların in vivo insülin hassasiyetlerini değerlendirmek için hastalardan kas ve adipoz doku biyopsileri alınmış ve ER stres markerleri incelenmiştir. Çalışma sonunda, TUDCA uygulanan grupta hepatik ve kas insülin hassasiyetinin plasebo grubuna göre yaklaşık %30 arttığı (p<0,05) belirlenmiştir. Ayrıca, sadece TUDCA alan hastalarda, kas insülin sinyalleşmesinin [fosforile insülin reseptör substrat ve Akt (Ser473) düzeyleri] arttığı belirlenmiştir. Ancak, her iki grupta da kas ve adipoz dokudaki ER stres markerlerinde bir değişiklik görülmemiştir.¹¹⁰

SONUÇ

Hücrede ER hayati bir öneme sahiptir. Gerek, hücre içi taşınımındaki görevi gerekse transmembran proteinlerinin doğru katlanmasını sağlaması yönü ile hücre için vazgeçilmez bir organeldir. Proteinlerin doğru katlanması ile birçok fizyolojik süreç doğru ve dinamik olarak devam etmektedir. Bunun için, ER'deki UPR mekanizması çok önemlidir. UPR, proteinlerin katlanmasının en doğru ve hatasız şekilde sağlanmasında büyük öneme sahiptir.¹¹¹ Son 20 yılda UPR'nin ER'de hücrel proteostasis için önemli olan homeostatik düzenin sağlanmasındaki rolünün yanında, hücrel çoğalma, farklılaşma, inflamasyon, apoptoz ve anjiyogenez gibi diğer hücrel süreçlerin düzenlenmesinde de rol oynadığı belirlenmiştir. UPR aktivasyonunun ortaya çıkışı, ER stresi süreci ile korelasyon gösteren dinamik bir süreçtir.²⁰ ER stresinin ve UPR aktivasyonunun belirgin bir şekilde kanser, nöro-dejeneratif hastalıklar, diyabet, obezite ve metabolik bozukluklar dâhil olmak üzere birçok hastalıkta arttığı bildirilmiştir. Elde edilen bulgular, normal ve hastalıkla ilişkili hücrel aktivitelerdeki UPR ve ER stresinin önemini göstermekle birlikte, bu yolların mekanizmaları ve fizyolojik öneminin anlaşılmasındaki karmaşıklığı ve zorlukları da gözler önüne sermiştir. Üç farklı UPR yolu ve "downstream" efektörleri ER

stresi varlığında farklı şekillerde aktiveye ve farklı hücre tiplerinde farklı etkilere neden olabilmektedir. Deneysel koşullar, deney sonuç ve yanıtlarını etkileyebilmektedir. Bu nedenle, deneysel koşulların tasarımı ve yürütülmesi farklı ER stres yanıtlarının ve farklı UPR yollarının aktivasyonunun belirlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır. UPR genlerinin (*GRP78*, *IRE-1*, *XBP1*, *PERK*, *ATF4*, *CHOP* ve *ATF6*) karşılıklı olarak birbirini regüle ettiği de bilinmektedir.¹¹² Ayrıca, hücrel stres yanıtlarında UPR'nin önemini belirten bir diğer bulgu ise DNA hasarı durumunda GRP-78'in posttranskripsiyonel düzeyde regüle olmasıdır. Farklı UPR yollarının aktivasyonunda, otofaji, redoks sinyalizasyonu, mitokondriyal fonksiyon ve Ca²⁺ regülasyonunun büyük önemi bulunmaktadır.¹¹³ Bu etkileşimlerin de hücre ve koşula özgü olabileceği belirtilmiştir; normal ve patolojik dokulardaki farklı UPR yollarının aktivasyonu hücre davranışlarını anlama konusunda önemli bilgiler sağlayabilmektedir.

Obezite, Tip 2 diyabet gelişimine katkıda bulunan; ancak altında yatan mekanizmaları tam olarak açıklanamayan metabolik bir hastalıktır. Metabolik sendrom ise insülin direnci, Tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıkları içeren ve insan hayatını tehdit eden önemli bir sendromdur.⁹³ Avrupa'da diyabet insidansı %8,4 iken, Orta Doğu, Amerika ve Kuzey Avrupa'da bu oran %11'dir. Amerika Birleşik Devletleri'nin bazı bölgelerinde, özellikle de iç eyaletlerde oran %33'e kadar çıkabilmektedir.^{114,115} 2014 yılında 18 yaş ve üstü 1,9 milyar aşırı kilolu insan olduğu ve bunların 600 milyonunun obez olduğu bildirilmiştir.³

Obezite ve diyabet gibi bazı patolojik stres koşulları ER homeostazını bozarak ER lümeninde katlanmamış proteinlerin birikimine yol açmaktadır. Özellikle, hücre kültürü ve fare modelleri kullanılarak yapılan çalışmalar, obezitenin ER stresine neden olduğunu göstermektedir. Bu stresle başa çıkmak için hücre, sitoplazma ve çekirdek ile ER lümenini bağlayan bir sinyal iletim sistemini etkinleştirmektedir.⁹⁹ Geçtiğimiz 10 yıl içinde, obezitenin hücrel stres ve inflamatuvar yollarının aktivasyonu ile ilişkili olduğu açık hâle gelmiştir. Son yıllarda yapılan birçok çalışmada, obezitenin ER stresi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.¹¹⁶⁻¹¹⁸

Gelecekte, UPR yolları ve glukoz homeostazi arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılmasıyla obezite ve diyabet tedavilerinde büyük ilerlemelerin sağlanacağı düşünülmektedir. Enerji homeostazi ve UPR arasındaki etkileşimde rol alan moleküler mekanizmalarının detaylı olarak belirlenmesi ile daha etkili obezite ve diyabet tedavi stratejileri geliştirilebileceği ve bu hastalıklarla mücadelede daha etkin tedavilerin uygulanabileceği düşünülmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması veya finansal destek bildirmemiştir.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Belma Koçer Gümüşel, Pınar Erkekoğlu; **Tasarım:** Belma Koçer Gümüşel, Pınar Erkekoğlu; **Denetleme/Danışmanlık:** Belma Koçer Gümüşel; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Özge Köse, Büşra Özyurt, Pınar Erkekoğlu; **Analiz ve/veya Yorum:** Pınar Erkekoğlu, Belma Koçer Gümüşel; **Kaynak Taraması:** Özge Köse, Pınar Erkekoğlu, Büşra Özyurt; **Makalenin Yazımı:** Özge Köse, Pınar Erkekoğlu, Büşra Özyurt; **Eleştirel İnceleme:** Belma Koçer Gümüşel; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Belma Koçer Gümüşel.

KAYNAKLAR

1. Dina C. New insights into the genetics of body weight. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2008;11(4):378-84.
2. World Health Organisation (WHO). Report of the WHO Consultation on Obesity. Obesity: prevention and management of the global epidemic of obesity. Geneva: WHO; 1997. p. 275.
3. Patel D. Pharmacotherapy for the management of obesity. *Metabolism*. 2015;64(11):1376-85.
4. Ogden CL, Yanovski SZ, Carroll MD, Flegal KM. The epidemiology of obesity. *Gastroenterology* 2007;132(6):2087-102.
5. Janssen I, Katzmarzyk PT, Ross R. Body mass index, waist circumference, and health risk: evidence in support of current National Institutes of Health guidelines. *Arch Intern Med* 2002;162(18):2074-9.
6. Görlach A, Klappa P, Kietzmann T. The endoplasmic reticulum: folding, calcium homeostasis, signaling, and redox control. *Antioxid Redox Signal* 2006;8(9-10):1391-418.
7. Dobson CM, Šali A, Karplus M. Protein folding: a perspective from theory and experiment. *Angew Chem Int Edit* 1998;37(7):868-93.

8. Braakman I, Hebert DN. Protein folding in the endoplasmic reticulum. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2013;5(5):a013201.
9. Christis C, Lubsen NH, Braakman I. Protein folding includes oligomerization-examples from the endoplasmic reticulum and cytosol. *FEBS J* 2008;275(19):4700-27.
10. Schröder M, Kaufman RJ. The mammalian unfolded protein response. *Annu Rev Biochem* 2005;74:739-89.
11. Breitling J, Aebi M. N-linked protein glycosylation in the endoplasmic reticulum. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2013;5(8):a013359.
12. Nishikawa S, Brodsky JL, Nakatsukasa K. Roles of molecular chaperones in endoplasmic reticulum (ER) quality control and ER-associated degradation (ERAD). *J Biochem* 2005;137(5):551-5.
13. Timmins JM, Ozcan L, Seimon TA, Li G, Malagelada C, Backs J, et al. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II links ER stress with Fas and mitochondrial apoptosis pathways. *J Clin Invest* 2009;119(10):2925-41.
14. Tabas I. The role of endoplasmic reticulum stress in the progression of atherosclerosis. *Circ Res* 2010;107(7):839-50.
15. Pinton P, Giorgi C, Siviero R, Zecchini E, Rizzuto R. Calcium and apoptosis: ER-mitochondria Ca²⁺ transfer in the control of apoptosis. *Oncogene* 2008;27(50):6407-18.
16. Webster KA. Mitochondrial membrane permeabilization and cell death during myocardial infarction: roles of calcium and reactive oxygen species. *Future Cardiol* 2012;8(6):863-84.
17. Novikoff AB. The endoplasmic reticulum: a cytochemist's view (a review). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1976;73(8):2781-7.
18. Spater HW, Novikoff AB, Spater SH, Quintana N. Pyridoxal phosphatase: cytochemical localization in GERL and other organelles of rat neurons. *J Histochem Cytochem* 1978;26(10):809-21.
19. Hotamisligil GS, Erbay E. Nutrient sensing and inflammation in metabolic diseases. *Nat Rev Immunol* 2008;8(12):923-34.
20. Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;8(7):519-29.
21. Kozutsumi Y, Segal M, Normington K, Gething MJ, Sambrook J. The presence of misfolded proteins in the endoplasmic reticulum signals the induction of glucose-regulated proteins. *Nature* 1988;332(6163):462-4.
22. Ruggiano A, Foresti O, Carvalho P. Quality control: ER-associated degradation: protein quality control and beyond. *J Cell Biol* 2014;204(6):869-79.
23. Walter P, Ron D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science* 2011;334(6059):1081-6.
24. Zhao L, Ackerman SL. Endoplasmic reticulum stress in health and disease. *Curr Opin Cell Biol* 2006;18(4):444-52.
25. Sitia R, Braakman I. Quality control in the endoplasmic reticulum protein factory. *Nature* 2003;426(6968):891-4.
26. Ellgaard L, Helenius A. Quality control in the endoplasmic reticulum. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003;4(3):181-91.
27. Wang S, Kaufman RJ. The impact of the unfolded protein response on human disease. *J Cell Biol* 2012;197(7):857-67.
28. Bertolotti A, Zhang Y, Hendershot LM, Harding HP, Ron D. Dynamic interaction of BiP and ER stress transducers in the unfolded-protein response. *Nat Cell Biol* 2000;2(6):326-32.
29. Ng DT, Watowich SS, Lamb RA. Analysis in vivo of GRP78-BiP/substrate interactions and their role in induction of the GRP78-BiP gene. *Mol Biol Cell* 1992;3(2):143-55.
30. Choi JA, Lim YJ, Cho SN, Lee JH, Jeong JA, Kim EJ, et al. Mycobacterial HBHA induces endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis through the generation of reactive oxygen species and cytosolic Ca²⁺ in murine macrophage RAW 264.7 cells. *Cell Death Dis* 2013;4:e957.
31. Lim YJ, Choi JA, Choi HH, Cho SN, Kim HJ, Jo EK, et al. Endoplasmic reticulum stress pathway-mediated apoptosis in macrophages contributes to the survival of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS One* 2011;6(12):e28531.
32. Ortiz C, Cardemil L. Heat-shock responses in two leguminous plants: a comparative study. *J Exp Bot* 2001;52(361):1711-9.
33. Haze K, Okada T, Yoshida H, Yanagi H, Yura T, Negishi M, et al. Identification of the G13 (cAMP-response-element-binding protein-related protein) gene product related to activating transcription factor 6 as a transcriptional activator of the mammalian unfolded protein response. *Biochem J* 2001;355(Pt 1):19-28.
34. Zhang SX, Sanders E, Fliesler SJ, Wang JJ. Endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein responses in retinal degeneration. *Exp Eye Res* 2014;125:30-40.
35. Minchenko DO, Kharkova AP, Tsymbal DO, Karbovskiy LL, Minchenko OH. IRE1 inhibition affects the expression of insulin-like growth factor binding protein genes and modifies its sensitivity to glucose deprivation in U87 glioma cells. *Endocr Regul* 2015;49(4):185-97.
36. Hollien J, Lin JH, Li H, Stevens N, Walter P, Weissman JS. Regulated Ire1-dependent decay of messenger RNAs in mammalian cells. *J Cell Biol* 2009;186(3):323-31.
37. Urano F, Wang X, Bertolotti A, Zhang Y, Chung P, Harding HP, et al. Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1. *Science* 2000;287(5453):664-6.
38. Yoshida H, Matsui T, Yamamoto A, Okada T, Mori K. XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor. *Cell* 2001;107(7):881-91.
39. Harding HP, Zhang Y, Bertolotti A, Zeng H, Ron D. Perk is essential for translational regulation and cell survival during the unfolded protein response. *Mol Cell* 2000;5(5):897-904.
40. Chen X, Shen J, Prywes R. The luminal domain of ATF6 senses endoplasmic reticulum (ER) stress and causes translocation of ATF6 from the ER to the Golgi. *J Biol Chem* 2002;277(15):13045-52.
41. Jiang D, Niwa M, Koong AC. Targeting the IRE1 α -XBP1 branch of the unfolded protein response in human diseases. *Semin Cancer Biol* 2015;33:48-56.
42. Glimcher LH. XBP1: the last two decades. *Ann Rheum Dis* 2010;69 Suppl 1:i67-71.
43. Reimold AM, Etkin A, Clauss I, Perkins A, Friend DS, Zhang J, et al. An essential role in liver development for transcription factor XBP1. *Genes Dev* 2000;14(2):152-7.
44. Zhong Y, Li J, Wang JJ, Chen C, Tran JT, Saadi A, et al. X-box binding protein 1 is essential for the anti-oxidant defense and cell survival in the retinal pigment epithelium. *PLoS One* 2012;7(6):e38616.
45. Yamamoto K, Sato T, Matsui T, Sato M, Okada T, Yoshida H, et al. Transcriptional induction of mammalian ER quality control proteins is mediated by single or combined action of ATF6 α and XBP1. *Dev Cell* 2007;13(3):365-76.
46. Yoshida H, Okada T, Haze K, Yanagi H, Yura T, Negishi M, et al. ATF6 activated by proteolysis binds in the presence of NF-Y (CBF) directly to the cis-acting element responsible for the mammalian unfolded protein response. *Mol Cell Biol* 2000;20(18):6755-67.
47. Harding HP, Zhang Y, Zeng H, Novoa I, Lu PD, Calton M, et al. An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress. *Mol Cell* 2003;11(3):619-33.
48. Lange PS, Chavez JC, Pinto JT, Coppola G, Sun CW, Townes TM, et al. ATF4 is an oxidative stress-inducible, prodeath transcription factor in neurons in vitro and in vivo. *J Exp Med* 2008;205(5):1227-42.
49. Roybal CN, Yang S, Sun CW, Hurtado D, Vander Jagt DL, Townes TM, et al. Homocysteine increases the expression of vascular endothelial growth factor by a mechanism involving endoplasmic reticulum stress and transcription factor ATF4. *J Biol Chem* 2004;279(15):14844-52.

50. Marciniak SJ, Yun CY, Oyadomari S, Novoa I, Zhang Y, Jungreis R, et al. CHOP induces death by promoting protein synthesis and oxidation in the stressed endoplasmic reticulum. *Genes Dev* 2004;18(24):3066-77.
51. McCullough KD, Martindale JL, Klotz LO, Aw TY, Holbrook NJ. Gadd153 sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress by down-regulating Bcl2 and perturbing the cellular redox state. *Mol Cell Biol* 2001;21(4):1249-59.
52. Zhang X, Zhang G, Zhang H, Karin M, Bai H, Cai D. Hypothalamic IKKbeta/NF-kappaB and ER stress link overnutrition to energy imbalance and obesity. *Cell* 2008;135(1):61-73.
53. Harding HP, Zhang Y, Ron D. Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic-reticulum-resident kinase. *Nature* 1999;397(6716):271-4.
54. Ting J, Lee AS. Human gene encoding the 78,000-dalton glucose-regulated protein and its pseudogene: structure, conservation, and regulation. *DNA* 1988;7(4):275-86.
55. Ware FE, Vassiliakos A, Peterson PA, Jackson MR, Lehrman MA, Williams DB. The molecular chaperone calnexin binds Glc1Man9GlcNAc2 oligosaccharide as an initial step in recognizing unfolded glycoproteins. *J Biol Chem* 1995;270(9):4697-704.
56. Michalak M, Corbett EF, Mesaali N, Nakamura K, Opas M. Calreticulin: one protein, one gene, many functions. *Biochem J* 1999;344 Pt 2:281-92.
57. Hatahet F, Ruddock LW. Protein disulfide isomerase: a critical evaluation of its function in disulfide bond formation. *Antioxid Redox Signal* 2009;11(11):2807-50.
58. Ushioda R, Hoseki J, Araki K, Jansen G, Thomas DY, Nagata K. ERdj5 is required as a disulfide reductase for degradation of misfolded proteins in the ER. *Science* 2008;321(5888):569-72.
59. Lin JH, Li H, Yasumura D, Cohen HR, Zhang C, Panning B, et al. IRE1 signaling affects cell fate during the unfolded protein response. *Science* 2007;318(5852):944-9.
60. Ron D. Translational control in the endoplasmic reticulum stress response. *J Clin Invest* 2002;110(10):1383-8.
61. Iwawaki T, Akai R, Yamanaka S, Kohno K. Function of IRE1 alpha in the placenta is essential for placental development and embryonic viability. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106(39):16657-62.
62. Bertolotti A, Wang X, Novoa I, Jungreis R, Schlessinger K, Cho JH, et al. Increased sensitivity to dextran sodium sulfate colitis in IRE1beta-deficient mice. *J Clin Invest* 2001;107(5):585-93.
63. Patil C, Walter P. Intracellular signaling from the endoplasmic reticulum to the nucleus: the unfolded protein response in yeast and mammals. *Curr Opin Cell Biol* 2001;13(3):349-55.
64. Chen CY, Malchus NS, Hehn B, Stelzer W, Avci D, Langosch D, et al. Signal peptide peptidase functions in ERAD to cleave the unfolded protein response regulator XBP1u. *EMBO J* 2014;33(21):2492-506.
65. Zhang P, Su C, Jiang Z, Zheng C. Herpes simplex virus 1 UL41 protein suppresses the IRE1/XBP1 signal pathway of the unfolded protein response via its RNase activity. *J Virol* 2017;91(4).
66. Maurel M, Chevet E. Endoplasmic reticulum stress signaling: the microRNA connection. *Am J Physiol Cell Physiol* 2013;304(12):C1117-26.
67. Dai BH, Geng L, Wang Y, Sui CJ, Xie F, Shen RX, et al. microRNA-199a-5p protects hepatocytes from bile acid-induced sustained endoplasmic reticulum stress. *Cell Death Dis* 2013;4:e604.
68. Lee K, Tirasophon W, Shen X, Michalak M, Prywes R, Okada T, et al. IRE1-mediated unconventional mRNA splicing and S2P-mediated ATF6 cleavage merge to regulate XBP1 in signaling the unfolded protein response. *Genes Dev* 2002;16(4):452-66.
69. Hollien J, Lin JH, Li H, Stevens N, Walter P, Weissman JS. Regulated Ire1-dependent decay of messenger RNAs in mammalian cells. *J Cell Biol* 2009;186(3):323-31.
70. Upton JP, Wang L, Han D, Wang ES, Huskey NE, Lim L, et al. IRE1 α cleaves select microRNAs during ER stress to derepress translation of proapoptotic caspase-2. *Science* 2012;338(6108):818-22.
71. Hinnebusch AG, Lorsch JR. The mechanism of eukaryotic translation initiation: new insights and challenges. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2012;4(10).
72. Verfaillie T, Rubio N, Garg AD, Bultynck G, Rizzuto R, Decuyper JP, et al. PERK is required at the ER-mitochondrial contact sites to convey apoptosis after ROS-based ER stress. *Cell Death Differ* 2012;19(11):1880-91.
73. Cullinan SB, Diehl JA. PERK-dependent activation of Nrf2 contributes to redox homeostasis and cell survival following endoplasmic reticulum stress. *J Biol Chem* 2004;279(19):20108-17.
74. Xu H, Zhou YL, Zhang XY, Lu P, Li GS. Activation of PERK signaling through fluoride-mediated endoplasmic reticulum stress in OS732 cells. *Toxicology* 2010;277(1-3):1-5.
75. Masuoka HC, Townes TM. Targeted disruption of the activating transcription factor 4 gene results in severe fetal anemia in mice. *Blood* 2002;99(3):736-45.
76. Roybal CN, Yang S, Sun CW, Hurtado D, Vander Jagt DL, Townes TM, et al. Homocysteine increases the expression of vascular endothelial growth factor by a mechanism involving endoplasmic reticulum stress and transcription factor ATF4. *J Biol Chem* 2004;279(15):14844-52.
77. Zhang T, Zhang N, Baehr W, Fu Y. Cone opsin determines the time course of cone photoreceptor degeneration in Leber congenital amaurosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108(21):8879-84.
78. Palam LR, Baird TD, Wek RC. Phosphorylation of eIF2 facilitates ribosomal bypass of an inhibitory upstream ORF to enhance CHOP translation. *J Biol Chem* 2011;286(13):10939-49.
79. Yamamoto K, Takahara K, Oyadomari S, Okada T, Sato T, Harada A, et al. Induction of liver steatosis and lipid droplet formation in ATF6alpha-knockout mice burdened with pharmacological endoplasmic reticulum stress. *Mol Biol Cell* 2010;21(17):2975-86.
80. Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, Samali A. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO Rep* 2006;7(9):880-5.
81. Qu L, Liu Z, Zhang HM, Su Y, Ye X. Endoplasmic reticulum stress-induced cell survival and apoptosis. *J Chin Clin Med* 2009;8:1-4.
82. Rutkowski DT, Arnold SM, Miller CN, Wu J, Li J, Gunnison KM, et al. Adaptation to ER stress is mediated by differential stabilities of pro-survival and pro-apoptotic mRNAs and proteins. *PLoS Biol* 2006;4(11):e374.
83. Hussain SG, Ramaiah KVA. Endoplasmic reticulum: stress, signalling and apoptosis. *Current Sci* 2007;93(12):1684-96.
84. Campos G, Schmidt-Heck W, Ghallab A, Rochlitz K, Pütter L, Medinas DB, et al. The transcription factor CHOP, a central component of the transcriptional regulatory network induced upon CCl4 intoxication in mouse liver, is not a critical mediator of hepatotoxicity. *Arch Toxicol* 2014;88(6):1267-80.
85. Gregor MF, Yang L, Fabbri E, Mohammed BS, Eagon JC, Hotamisligil GS, et al. Endoplasmic reticulum stress is reduced in tissues of obese subjects after weight loss. *Diabetes* 2009;58(3):693-700.
86. Ghosh AP, Klocke BJ, Ballestas ME, Roth KA. CHOP potentially co-operates with FOXO3a in neuronal cells to regulate PUMA and BIM expression in response to ER stress. *PLoS One* 2012;7(6):e39586.
87. Kim BJ, Ryu SW, Song BJ. JNK- and p38 kinase-mediated phosphorylation of Bax leads to its activation and mitochondrial translocation to apoptosis of human hepatoma HepG2 cells. *J Biol Chem* 2006;281(30):21256-65.
88. Stolz A, Wolf DH. Endoplasmic reticulum associated protein degradation: a chaperone assisted journey to hell. *Biochim Biophys Acta* 2010;1803(6):694-705.

89. Dandekar A, Mendez R, Zhang K. Cross talk between ER stress, oxidative stress, and inflammation in health and disease. *Methods Mol Biol* 2015;1292:205-14.
90. Newbold RR. Impact of environmental endocrine disrupting chemicals on the development of obesity. *Hormones (Athens)* 2010;9(3):206-17.
91. Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, et al. Endocrine-disrupting chemicals: an endocrine society scientific statement. *Endocr Rev* 2009;30(4):293-342.
92. Hotamisligil GS. Role of endoplasmic reticulum stress and c-jun NH2-terminal kinase pathways in inflammation and origin of obesity and diabetes. *Diabetes* 2005;54 Suppl 2):S73-8.
93. Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee AH, Iwakoshi NN, Ozdelen E, et al. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science* 2004;306 (5695):457-61.
94. Coen PM, Goodpaster BH. Role of intramyocellular lipids in human health. *Trends Endocrinol Metab* 2012;23(8):391-8.
95. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372(6505):425-32.
96. Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995;269 (5223):540-3.
97. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998;395(6704):763-70.
98. Ozcan L, Ergin AS, Lu A, Chung J, Sarkar S, Nie D, et al. Endoplasmic reticulum stress plays a central role in development of leptin resistance. *Cell Metab* 2009;9(1):35-51.
99. Hosoi T, Sasaki M, Miyahara T, Hashimoto C, Matsuo S, Yoshii M, et al. Endoplasmic reticulum stress induces leptin resistance. *Mol Pharmacol* 2008;74(6):1610-9.
100. Zhou B, Li H, Xu L, Zang W, Wu S, Sun H. Osteocalcin reverses endoplasmic reticulum stress and improves impaired insulin sensitivity secondary to diet-induced obesity through nuclear factor- κ B signaling pathway. *Endocrinology* 2013;154(3):1055-68.
101. Ghosh AK, Garg SK, Mau T, O'Brien M, Liu J, Yung R. Elevated endoplasmic reticulum stress response contributes to adipose tissue inflammation in aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2015;70(11):1320-9.
102. Kim OK, Jun W, Lee J. Effect of cudrania tricuspidata and kaempferol in endoplasmic reticulum stress-induced inflammation and hepatic insulin resistance in HepG2 cells. *Nutrients* 2016;8(1).
103. Thon M, Hosoi T, Ozawa K. Dehydroascorbic acid-induced endoplasmic reticulum stress and leptin resistance in neuronal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2016;478(2): 716-20.
104. Hsu HC, Chen CY, Lee BC, Chen MF. High-fat diet induces cardiomyocyte apoptosis via the inhibition of autophagy. *Eur J Nutr* 2016; 55(7):2245-54.
105. Yang L, Li P, Fu S, Calay ES, Hotamisligil GS. Defective hepatic autophagy in obesity promotes ER stress and causes insulin resistance. *Cell Metab* 2010;11(6):467-78.
106. Sims-Robinson C, Bakeman A, Glasser R, Boggs J, Pacut C, Feldman EL. The role of endoplasmic reticulum stress in hippocampal insulin resistance. *Exp Neurol* 2016;277:261-7.
107. Qiang G, Kong HW, Fang D, McCann M, Yang X, Du G, et al. The obesity-induced transcriptional regulator TRIP-Br2 mediates visceral fat endoplasmic reticulum stress-induced inflammation. *Nat Commun* 2016;7: 11378.
108. Iizuka Y, Kim H, Izawa T, Sakurai K, Hirako S, Wada M, et al. Protective effects of fish oil and pioglitazone on pancreatic tissue in obese KK mice with type 2 diabetes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2016;115:53-9.
109. Gregor MF, Hotamisligil GS. Thematic review series: adipocyte biology. Adipocyte stress: the endoplasmic reticulum and metabolic disease. *J Lipid Res* 2007;48(9):1905-14.
110. Kars M, Yang L, Gregor MF, Mohammed BS, Pietka TA, Finck BN, et al. Tauroursodeoxycholic acid may improve liver and muscle but not adipose tissue insulin sensitivity in obese men and women. *Diabetes* 2010;59(8):1899-905.
111. Minchenko DO, Kubačuk KI, Hubenia OV, Kryvdiuk IV, Khomenko IeV, Herasymenko RM, et al. Endoplasmic reticulum stress and angiogenesis. *Fiziol Zh* 2013;59(4):93-106.
112. Takayanagi S, Fukuda R, Takeuchi Y, Tsukada S, Yoshida K. Gene regulatory network of unfolded protein response genes in endoplasmic reticulum stress. *Cell Stress Chaperones* 2013;18(1):11-23.
113. Jing G, Wang JJ, Zhang SX. ER stress and apoptosis: a new mechanism for retinal cell death. *Exp Diabetes Res* 2012;2012:589589.
114. Looker HC, Krakoff J, Andre V, Kobus K, Nelson RG, Knowler WC, Hanson RL. Secular trends in treatment and control of type 2 diabetes in an American Indian population: a 30-year longitudinal study. *Diabetes Care*. 2010;33(11):2383-9.
115. Centers for Disease Control and Prevention. National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion. Division of Diabetes Translation. *Fast Facts on Diabetes*. Atlanta GA: National Diabetes Fact Sheet; 2011. p.12.
116. Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell* 2010;140(6):900-17.
117. Ma Y, Hendershot LM. The unfolding tale of the unfolded protein response. *Cell* 2001; 107(7):827-30.
118. Kaufman RJ, Scheuner D, Schröder M, Shen X, Lee K, Liu CY, et al. The unfolded protein response in nutrient sensing and differentiation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002;3(6):411-21.