

İskemi Reperfüzyon Hasarında Stres ve Hücre Ölümü

Stress and Cell Death in Ischemia Reperfusion Damage

Ümmü Gülşen Bozok¹ ORCID No: 0000-0002-2016-7305, Ayşegül Küçük¹ ORCID No: 0000-0001-9316-9574, Mustafa Arslan² ORCID No: 0000-0003-4882-5063

¹ Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Kütahya, Türkiye.

² Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

Geliş Tarihi/Received: 11.10.2021

Kabul Tarihi/Accepted: 19.12.2021

Yazışma Adresi/Address for

Correspondence:

Ümmü Gülşen BOZOK
Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Evliya Çelebi Yerleşkesi
Tavşanlı Yolu 10. Km
Kütahya/Merkez
E-posta: gulsenozsoy07@gmail.com

Anahtar Sözcükler:

Apoptoz
İskemi-Reperfüzyon Hasarı
Nekroz
Otofaji
Stres Mekanizmaları

Key Words:

Apoptosis
Autophagy
Ischemia-Reperfusion Injury
Necrosis
Stress Mechanisms

ÖZ

İskemi-reperfüzyon hasarı, miyokard enfarktüsü, iskemik inme, akut böbrek hasarı, periferik arter hastalığı, orak hücre anemisi dahil olmak üzere çok çeşitli patolojilerin morbidite ve mortalitesinde rol oynar. İskemide kan akımındaki azalmanın derecesine ve süresine bağlı olarak hücreler metabolik ihtiyaçlarını karşılayamaz. Hızlı reperfüzyon, oksijen açlığı çeken hücrelerin kurtarılması için gerekli olmasına rağmen, hücrede oluşan reaktif oksijen ürünleri (oksijen paradoksu) hücreleri strese sürükler. Reperfüzyon ile birlikte ortaya çıkan stres yanıtı sınırlandırılmazsa hücre ölüm programları aktive olarak hücre ölür. Bu derlemenin amacı iskemide reperfüzyon hasarında rol oynayan hücresel stres mekanizmalarını ve ölüm programlarını tanımlamaktır.

ABSTRACT

Ischemia-reperfusion injury is the most common cause of morbidity and mortality in some diseases, such as myocardial infarction, stroke, sickle cell anemia, and peripheral vascular disease. The degree of blood flow reduction and the length of the ischemic period are associated with metabolite starvation and tissue damage. Therefore, it is expected that reperfusion protects oxygen-starved tissues. However, producing reactive oxygen species with reperfusion (oxygen paradox) causes stress. If stress cannot be limited, cell death programs begin, and the cell dies. This review aims to describe cellular stress mechanisms and death programs that play a role in ischemia-reperfusion injury.

Giriş

Bir organ veya doku kanlanmadığı zaman, geri dönüşü olmayan doku hasarını önlemek ve organ fonksiyonunun sürdürülmesini sağlamak için iskemik bölgeye kan akımının yeniden sağlanması gerekir. Kan akımının ilk inhibisyonu ile başlayan doku tepkisi, reperfüzyon ile oksijenasyonu takiben paradoksal hale gelebilir. Paradoksal oksijen tepkisi ile oluşan metabolitler hasarın daha da şiddetlenmesine ve hücrenin strese girmesine sebep olabilir. Bu stres yanıtını oluşturan metabolit ve organelere göre; oksidatif stres, nitrozatif stres, endoplazmik retikulum stresi ve mitokondriyal stres olarak sınıflandırmak mümkündür. Hücre kendisine zarar veren stres yanıtını antioksidan araçlarla durdurmaya çalışır. Eğer hücre bu stres mekanizmalarının önüne geçemezse hücre ölüm mekanizmaları devreye girer (1).

1.1. İskemi Reperfüzyon Hasarında Oksidatif Stres

Oksidatif stres, metabolik süreçler sırasında reaktif oksijen metabolitleri (ROS) aşırı üretimini veya azaltılmış temizleme kapasitesinin neden olduğu, oksidatif ve antioksidan sistemler arasında dengesizliğe neden olan patolojik doku hasarı sürecini ifade eder. İskemi reperfüzyon (İ/R) hasarında yaygın oksidatif stres oluşur (2). Stres ile hücre içinde artan ROS, lipidler, proteinler, şeker ve DNA gibi çevredeki biyolojik makromoleküllerle hücre fonksiyonunu etkileyen ve hatta hücre ölümüne neden olan bir dizi reaksiyona girer. Çoklu doymamış yağ asitleri üzerinde etki ederek mitokondriyal zarı lipid peroksidasyonuna neden olur (3). DNA, RNA, polisakkaritler ve amino asitler gibi makromoleküllere çapraz bağlanarak onların işlevlerini ve aktivitelerini kaybetmesine neden olur (4).

Oksitlenmiş lipidlere ve proteinlere karşı yüksek reaktiviteleri nedeniyle endotel hücrelerine zarar verir (5). Sitokinlerin ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu uyararak, inflamasyon ve bağışıklık yanıtının oluşmasında rol oynar (6). Polisakkarit moleküllerinin polimerizasyonuna ve bozulmasına neden olur. Böylece, permeabilite, iyon transportu ve bariyer fonksiyonlarının ciddi şekilde bozularak hücre bütünlüğünün kaybolmasına sebep olur (7). Buna karşılık, anti-oksidasyon sistemi ROS oluşumu ve yıkımının denge halinde kalmasını sağlayarak hücrelerin yapısını ve işlevini korur. Vücudun antioksidan sistem yoluyla fazla serbest radikalleri yıkma yeteneğini, vücuttaki serbest radikal metabolizmasının durumunu ve vücudun antioksidan fonksiyonunu gösteren indekse total antioksidan kapasite (T-AOK) denir. T-AOK, enzimatik ve nonenzimatik sistemleri içerir. Başlıca enzimler süperoksit dismutaz (SOD), tioredoksin (Trx), paraoksonaz (PON), glutatyon peroksidaz (GSHPx), katalaz (CAT), glutatyon S-transferazdır (GST). Glutatyon (GSH), A vitamini, C vitamini, E vitamini ve karotenoidler ise nonenzimatik T-AOK elemanlarıdır (8). İskemik inme hastalarında yüksek serum T-AOK seviyeleri ile mortalitenin ilişkili olduğu gösterilmiştir (9). Bu sebeple, İ/R hasarında T-AOK biyobelirteç olarak kullanılabilirliği gibi İ/R hasarının önlenmesinde de kullanılabilir (8, 10, 11).

1.2. İskemi Reperfüzyon Hasarında Nitrozatif Stres

Hücre fizyolojisinde önemli araçlar olan reaktif nitrojen türleri (RNT), nitrik oksit (NO) seviyesinde anormal artış ile üretilen radikallerdir. Oluşumları için yüksek konsantrasyonlarda süperoksit anyonu (O_2^-) da gereklidir. Yarılma ömrü uzundur ve reaksiyonlarda O_2^- ye göre üç kat daha hızlı tepki verir. Fizyolojik şartlarda nonspesifik bağışıklık tepkisinin bir parçasını oluşturur ve sinyal iletim yollarına ikincil haberciler olarak katılır. Düşük konsantrasyonlarda hücreleri pro-apoptotik etkilerden korur (12). Yüksek konsantrasyonlarda ise hücrelerde oksidatif stresin oluşumunu önlemede kritik role sahip albumin, glutatyon, homosistein gibi sülfidril (-SH) grubu içeren tiyollerin redoks devrelerinin düzensizliğine sebep olur. RNT varlığında protein oksidasyonunun en erken belirtisi tiyol gruplarının oksitlenerek reversibl disülfid bağlarına dönüşmesidir. Oluşan disülfid bağ yapıları tekrar tiyol gruplarına indirilebilir ve böylece tiyol disülfid dengesi sürdürülür. Tiyol-disülfid dengesi, antioksidan savunma, inflamasyon, immün yanıt, apoptoz ve hücre içi sinyal mekanizmalarında kritik rollere sahiptir (1). RNT'lerin artması sonucu bu dengenin bozulması hücre hasarına sebep olur. Diğer taraftan RNT, hücre içi organellere kolayca yayılan ve son derece yüksek hızda reaksiyona giren stabil maddeler oldukları

için, hücre zarlarında, proteinlerde, mitokondride, endoplazmik retikulumda, nükleik asitlerde ve enzimlerde geri dönüşü olmayan hasar sonucu nekroza ve hücre ölümüne yol açar (2). RNT'nin oluşturduğu hücre hasarından ölümüne kadar olaylar bütününe nitrozatif stres denir. Peroksinitrit ($ONOO^-$), nitrojen dioksit (NO_2), peroksinitroz asit (HNO_3), dinitrojen trioksit (N_2O_3), nitroksil (HNO), peroksinitroz asit ($ONOOH$), peroksinitrat (O_2NOO^-), peroksinitrik asit (O_2NOOH), nitrozonyum katyon (NO^+), nitrat (NO_3^-), nitrit (NO_2^-) ve nitroksil anyon (NO^-) başlıca RNT'dir (13, 14). NO, RNT'nin ana öncüsüdür. L- arjinin'den nöronal (nNOS), endotelial (eNOS) ve indüklenebilir (iNOS) NO sentazlar (NOS) aracılığıyla ve nitrit havuzlarının nitrit redüktazlar aracılığıyla indirgenmesiyle üretilebilir. Reaksiyonun kofaktörleri moleküler O_2 , flavin adenin dinükleotit, flavin mononükleotit, Ca^{+2} , kalmodulin, 5, 6, 7, 8 tetrahidro-L-biopterin (BH4) ve NADPH'dir (15). Gerekli olan O_2^- mitokondrideki elektron taşıma zincirinden, peroksisomlardan, NADPH oksidazlardan, ksantin oksidazlardan (KO), sitokrom p450 ve/veya siklooksijenaz (COX) yollarından elde edilir (16). NO üretim oranına bağlı olarak hem doğrudan, hem de dolaylı etkiler gösterir. Doğrudan etkileri, düşük konsantrasyonlarda üretildiğinde ortaya çıkar. Düşük konsantrasyonlarda pro-apoptotik etkileri önleyici görev yapar. Yüksek konsantrasyonları ise apoptotiktir (16). NO düşük dozlarda demirle koordineli hem parçalarına sahip proteinlerle nitrosil komplekslerini oluşturur (17). Damar sisteminde vazodilatör olarak görev yapar. Trombosit agregasyonunu ve adezyonunu, lökosit/trombosit ile endotel arasında adeziv etkileşimleri önler ve anjiyogenezi düzenler (18). Dolaylı etkileri ise, NO'nun O_2 veya O_2^- ile etkileşimi sonucu, sırasıyla dinitrojen trioksit (N_2O_3) veya peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşumudur. İ/R sırasında yüksek oranlarda N_2O_3 ve $ONOO^-$ üretildiğinde, nitrozatif stres ortaya çıkar (1). Makrofajlar ve diğer hücre tiplerinde kalsiyum bağımlı nNOS aktivasyonu ve kalsiyumdan bağımsız iNOS aktivasyonundan üretilen yüksek NO konsantrasyonlarının iskemik beyin hasarını şiddetlendirdiği gösterilmiştir (19). eNOS'a üretilen az miktarda NO, sinir sistemini koruyucu etkiler gösterir. Serebral iskemide eNOS nakavt farelerde yabani tiplere göre daha büyük enfarktüs hacimleri görülür (20). Selektif NOS inhibitörleri de iskemik inmeye karşı koruyucu etkiler gösterir (21, 22). NO bu etkilerini solubl guanilat siklaz (sGC) aracılı sinyalizasyon yoluyla oluşturur. Ama çoğu işlevini klasik yolak üzerinden gerçekleştirilmektedir. sGC'den bağımsız NO sinyalinin etkilendiği başlıca yol proteinlerin S-nitrozasyonudur (23). S-nitrozilasyon, düşük moleküler ağırlıklı S-nitrozoglutatyon ve S-nitrozile edilmiş proteinleri içeren S-nitrozotiyollerini oluşturmak için NO'in reaktif bir sistein kalıntısına kovalent

bağlanmasından oluşan enzimatik olmayan geri dönüşümlü bir reaksiyondur. S-nitrosilasyon, bir alıcı tiyol ve S-nitrosoglutasyon içeren transnitrosilasyon yoluyla meydana gelebilir. S-nitrozoglutasyon en bol bulunan endojen S-nitrozotiyollerdir ve stabil bir hücre içi NO rezervuarı olarak hizmet eder (16). Protein ve lipid nitrozilasyonu tiyol bağımlı redoks kontrolü ile hücre fonksiyonlarını değiştirebilir (1). Artan NOS aktivitesi kaspazların S-nitrozilasyonunu artırır. Artan kaspaz S-nitrosilasyonu, bir apoptotik uyarıcı ile sunulduğunda kaspaz aktivasyonunu antagonize eder ve böylece apoptotik sinyalleme bastırılır (23). Protein S-nitrosilasyonu genellikle NFκβ, IκB kinaz, PKC, Bcl-2, kaspazlar, PTS, MnSOD, hücre iskeleti aktin, mitokondriyal kompleks I ve çeşitli hücre yüzeyi reseptörlerini hedef alır ve hücre hasarına karşı koruyucu etki gösterir (24, 25). Diğer taraftan, S-nitrozotiyoller, endotel hücrelerini redoks döngüsü işlev bozukluğuna karşı duyarlı hale getirir ve hücrel S-nitrozotiyol düzeylerinin yükselmesiyle de hücre ölümü kolaylaşır (23). Tüm RNT'den en çok bulunan ONOO⁻ dir. NO, O₂⁻ varlığında tüm RNT'yi oluşturur fakat hakim olan molekül en sitotoksik olan ONOO⁻ dur (26). ONOO⁻, NO ve ROS üretiminin artması ile oluşur. Süperoksit anyonlarından yaklaşık 400 kat daha yüksek lipid katmanlarına nüfuz etme kapasitesine sahiptir (27). Sitotoksik etkilerini protein tirozin nitrozasyonu, lipid membran peroksidasyonu, mitokondriyal disfonksiyon ve DNA kırılması yoluyla uygular (28). ONOO⁻, proteinlerin sistein kalıntılarındaki S-nitrosilasyon sonucu fonksiyonlarını değiştirerek hasara sebep olur. NO₂⁻ ve hidrojen peroksit (H₂O₂) varlığında miyeloperoksidaz, laktoperoksidaz ve prostaglandin H sentaz ve hem peroksidaz enzimlerinde nitrosasyonuna sebep olur (31). H₂O₂ ve NO₂⁻ arasındaki reaksiyon fenolik hidroksil grubunun orto-pozisyonunda bir tirozin kalıntısı ile 3-nitrotirozin oluşumu ile sonuçlanır. 3-nitrotirozin protein hasarına ve inaktif protein oluşumuna neden olur. Nitrotirozin, RNT oluşumunun göstergesidir (32). ONOO⁻'nin serebral İ/R modelinde miyelin lipidlerini oksitleyebildiği ve inflamasyon sürecine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (29). Yine bir başka çalışmada iskemik inemeli hastalardan 24-48 saat sonra alınan kan örneklerinde ONOO⁻ düzeylerinde artış görülmüştür (30). İ/R'de GSH ve/veya SOD gibi hücre içi antioksidan mekanizmalar ile ONOO⁻ oluşumu önlenerek hücre hasarının önüne geçilebilir (16).

1.3. İskemi Reperfüzyon Hasarında Endoplazmik Retikulum Stresi

Endoplazmik retikulum (ER), protein katlanması, işlenmesi, taşınması ve parçalanması dahil olmak üzere protein homeostazında anahtar rol oynayan hücre içi bir organeldir. İ/R sebep olduğu patolojik olaylar nedeniyle

ER'de çok sayıda katlanmış protein üretimine sebep olur. ER protein katlama kapasitesini aştığında, ER lümeni içinde biriken katlanmamış/yanlış katlanmış proteinlerle karakterize, ER stresi oluşur. Hücreler bu sürecin üstesinden gelmek ve ER homeostazını yeniden kurmak için katlanmamış protein cevabı (UPR) adı verilen sinyal iletim yolunu başlatır. UPR, inozitol gerektiren enzim 1α (IRE1α), pankreatik endoplazmik retikulum kinaz (PERK) ve aktive edici transkripsiyon faktörü 6 (ATF 6) olmak üzere üç adet ER-transmembran stres sensörü tarafından kontrol edilir. Yanlış katlanmış/katlanmamış proteinler biriktikçe, bu transmembran reseptörleri UPR'yi indüklemek için aktive olur. UPR, ER şaperon glukoz ilişkili protein 78 (GRP 78)'i aktive eder. ER stresi sırasında GRP78, bu üç stres sensörü tarafından salınarak katlanmamış ve yanlış katlanmış proteinlerle interaksiyona geçer (33). UPR, proteinlerin parçalanmalarını hızlandırır, ER'de şaperonların ekspresyonunu artırarak katlanmamış protein miktarını azaltır ve yeni proteinlerin oluşumunu uyarır. ER stresinin erken evrelerinde UPR sinyal aktivasyonu stresi ortadan kaldırmazsa, proksimal efektörlerin (PRRK, ATF6 ve IRE1) sürekli aktivasyonu farklı sinyal aracılı UPR kaynaklı protein üretimi ile hücre ölümüne sebep olur. Ayrıca, uzun süreli veya sürekli ER stres koşulları altında UPR programı, ER homeostazını geri getiremeyebilir. Bu nedenle UPR aracılı apoptoz ile hücre ölümü gerçekleşir (34, 35). Transgenik farelerin kalplerinde ATF6'nın ön aktivasyonu İ/R hasarına karşı koruyucu etki gösterir (36). İskemik ön koşullandırma GRP78'in up regülasyonu, kültür ortamında kardiyomiyositleri iskemik hasara karşı korur (37). Kalpte UPR'nin iskemi veya İ/R sırasında aktivasyonu miyokardiyal hücrelerde stres yanıtına karşı koruyucu etkiler gösterir. Fakat, birkaç çalışma UPR'nin kalpte İ/R hasarına yol açabileceğini göstermiştir. ER stres yanıt proteini, p53 upregüle apoptoz modülatörünün (PUMA) artmış ifadesi UPR yoluyla kültür ortamında kardiyomiyositlerde apoptozu artırır (38). Aynı zamanda, UPR aktivasyonu kardiyomiyosit apoptozuna katkıda bulunan kaspaz-3, JNK ve p53 aktivasyonuna da sebep olur (39). Kardiyomiyositlerde, UPR iskeminin erken evrelerinde iskemi aktivasyonuna karşı koruyucu etkiler gösterirken, sonraki evrelerde apoptotik özellikler göstermiştir (40). UPR'nin farklı işlevleri, ATF6, PERK ve IRE-1 aktivasyonu ve ER stres derecesine bağlı olabilir. ATF6, çoğunlukla koruyucu proteinlerin aktivasyonuna aracılık eder fakat PERK, apoptotik genlerin aktivasyonunu indükleyebilir (36). Bu nedenle, kısa iskemik stres, koruyucu etkileri teşvik etmek için UPR'nin regülasyonu altındaki proteomda değişikliklere yol açabilirken, uzun süreli iskemi proteomda hücrel hasara yol açabilir (41). Patolojik ER stresi UPR yanında bozulmuş Ca⁺² homeostazi,

artmış apoptotik sinyaller gibi fizyolojik mekanizmalarla ilişkilidir (42). ER stresi sırasında, sitozole inositol trifosfat reseptör aracılı Ca^{+2} salınımını aktive eden ve apoptozu indüklemek için kalsiyum kalmodulin bağımlı kinaz II'yi (CaMKII) aktive eden ER oksidaz 1 ekspresyonu indüklenir (43). İ/R'de ER stresi sırasında ATP konsantrasyonu azalır, bu da ER'de depolanan hücre içi Ca^{+2} seviyelerini azaltır (38). Hücre içi Ca^{+2} aşırı artışı, Xbp1 ve ATF6'yı indükleyerek miyokardiyal hücre nekrozunu azaltan GRP94'ün artmış ifadesine aracılık eder (44). Miyokardiyal İ/R modelinde ER stresinin inhibisyonu Ca^{+2} bağımlı proteaz kalpain aracılı apoptozu engelleyerek, miyokardiyal fonksiyonun iyileşmesini sağlar (45). UPR, membran potansiyeli ve sitokrom c salınım derecesi dahil olmak üzere bir dizi mitokondriyal fonksiyonu düzenleyebilir (46). UPR ayrıca bağışıklık fonksiyonunda da rol oynayabilir. Katepsin ile uyarılan ER stresi IFN düzenleyici faktör 3 ve cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein (CREB/CBP) /p300'ün interferon beta 1'e (IFNB1) promotörüne bağlanmasını artırır. ER stresi, miyokardiyal İ/R hasarını destekleyebilen NF- κ B sinyal yolunu aktive ederek nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı benzeri reseptör protein 1'i (NLRP1) aktive edebilir (47). NLRP'ler, NLRP1 ve NLRP3 inflamatuvar cisimlerini içeren tipik inflamasyonlar olarak sınıflandırılır. Kaspaz-1'i aktive edebilirler, bu da proinflamatuvar sitokinler IL-1 β ve IL-18 oluşumu ve salgılanması ile sonuçlanır (48). ATF6, Xbp1, ATF4, CHOP ve IRE1 dahil olmak üzere ER stresi tarafından aktive edilen birkaç önemli protein vardır. ATF6 normal olarak adaptif UPR'de hücre fizyolojinin yeniden şekillenmesini, akut fizyolojik ve patolojik hasarı takiben iyileşmesini sağlar (49). ATF6, S1P/S2P'ye bağlı proteoliz yoluyla Xbp1 gibi UPR tarafından düzenlenen temel l σ sin fermuar transkripsiyon faktörleri ile dimerize olabilir veya mTOR sinyali gibi diğer strese duyarlı sinyal yollarıyla ilişkilendirilir (50). ATF6'nın, Ca^{+2} pompası SERCA2a ve birkaç antioksidan genin ekspresyonunu indüklediği de rapor edilmiştir (51). Xbp1'in artmış ifadesi oksijen glukoz yoksunluğu/reoksijenasyonu (OGD/R) tarafından indüklenen hücre ölümünü engeller, kalpte ve beyinde İ/R hasarına karşı koruyucu etkiler gösterir (49, 52). Xbp1 aktivasyonunun inhibe edilmesi, beyin İ/R hasarında nöronal hücre ölümünü hızlandırabilir. ER stresi beyin İ/R hasarının patolojisi ile ilişkilidir. OGD/R stresi, Xbp1 genini geçici olarak etkisiz hale getirerek, ER işlev bozukluğu nedeniyle hızlanmış nöron ölümüyle sonuçlanır. Xbp1 reaktivasyonu, OGD/R stresine karşı nöroprotektif olabilir (53). ATF4, hafif ER stresi altında C/EBP Homolog Protein (CHOP) ifadesini indükler. Bununla birlikte, kronik ER stresi altında PERK, CHOP ekspresyonunu önemli ölçüde artırır ve hücre ölümünü artırmak için Bcl-2 ekspresyonunu baskılar (54).

CHOP'un ayrıca PUMA ve proapoptotik protein Bim'in ekspresyonunu arttırdığı ve böylece mitokondriyal bağımlı apoptozu indüklediği bildirilmiştir (55). IRE1, hipertrofi ve İ/R'u da içine alan kardiyak patolojilere karşı önemli bir savunma mekanizması olan otofaji aktivasyonu ile ilişkilidir (56).

1.4. İskemi Reperfüzyon Hasarında Mitokondriyal Stres

Mitokondri, normal hücre fonksiyonu ve canlılığı için gerekli olan aerobik koşullar altında ATP üretiminin ana kaynağıdır. ATP sentezine ek olarak, mitokondri hücrede çok çeşitli metabolik süreçleri ve sinyal yollarını düzenler. Farklı metabolitleri sentezlerler, hücre redoks potansiyelini düzenlerler ve iyon düzenlemesinde, özellikle Ca^{+2} homeostazında, termogenezde ve apoptozda önemli rol oynar (57). İskemi sırasında, oksijen eksikliği mitokondriyal solunum zinciri boyunca elektron akışını engeller. Sonuç olarak, F1FO ATPaz tarafından ADP'nin fosforillenerek ATP'ye dönüşmesi gerçekleşemez. Aslında, inhibe edilmiş elektron transferi altında, ATP sentaz ters modda (ATP hidrolaz) çalışır ve proton elektrokimyasal gradientini ($\Delta\psi_m$) korumak için kalan küçük ATP'yi hidroliz eder (58). Bu iki olayın bir sonucu olarak, ATP seviyeleri iskemi sırasında çok hızlı bir şekilde düşer. Mitokondriyal F1FO ATPaz'ın seçici inhibisyonu, iskemi sırasında ATP kaybı oranını yavaşlatır ve reperfüzyonla hücre ATP seviyelerini iyileştirir ve enfarktüs boyutunu sınırlar (59). İskeminin neden olduğu bozulmuş oksidatif fosforilasyon ayrıca yağ asitlerinin parçalanmasını ve/veya oksidasyonunu da engeller (60). Toksik yağ asitleri etkilenen hücrelerde biriktikçe, inflamatuvar araşidonik asit metabolit oluşumunu tetikler ve mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneklerinin (mitochondrial permeability transition pores: mPTP) açılmasını kolaylaştırır (61). Daha önce bahsedildiği gibi mitokondri, İ/R'de önemli oksidatif stres kaynağıdır. Aşırı ROS, elektron taşıma zinciri ve mitokondriyal dış zar proteinleri p66Shc ve MAO'lar ve mitokondriyal NOX4 tarafından üretilir. Fizyolojik koşullar altında elektron taşıma zincirinin I ve III kompleksleri aracılığıyla üretilen süperoksit, süperoksit dismutaz (SOD) ile nötralize edilir. Fakat, iskemi sırasında özellikle kompleks I'de artan süperoksit sızıntısı, hücre antioksidan savunmalarını bastırır. Reperfüzyonla birlikte, kan akımı yeniden sağlandığında bu hasar daha da artar (62). İ/R ile mPTP'nin açılması hücre ölümüne gitmeden önceki son basamaktır. Bu gözenek, iske mi sırasında asidoz sebebiyle hareketsizdir. Reperfüzyonla birlikte, mitokondriyal Ca^{+2} aşırı yükü ve moleküler oksijenin sağlanmasıyla ROS üretimindeki artış, mPTP'nin açılmasına neden olur. Açık mPTP'nin çapı büyük olduğundan,

1,5 kD boyutuna kadar moleküller kanalı rahatça geçebilir. Ayrıca, mPTP'nin açılmasıyla mitokondriyal matrikse H⁺ iyon akışı sonucu, Δψ_m bozulur, elektron taşıma zincirini ayırır ve ATP sentezini inhibe eder. Aynı zamanda su ozmotik olarak organel içerisine girerek, aşırı şişme sonucu hücre patlamasına sebep olur (58). Mitokondriyal DNA, İ/R'deki başka bir hedeftir. Mitokondri, hücre iskeletine bağlanan ve bir membran temas bölgesi ağı aracılığıyla endoplazmik retikuluma bağlı olan, birbiriyle iletişim kuran tübüler ağlar oluşturur. Bu mitokondriyal tübüler ağlar, hücre içindeki enerji dağılımı için proton hareketine yönelik iletken bir yol sağlar (63). ER, mitokondriyal yüzey alanının yaklaşık %2-%5'ini kaplar. ER ile mitokondriyal membranlar arasındaki 6-15 nm boşluk organeller arasındaki sinyallerin veya metabolitlerin (Ca⁺² ve lipidler) akışını kolaylaştırır. Mitokondri oldukça dinamik bir organdır. Patolojik durumlarda mitokondriyal morfoloji ve işlevde değişiklik oluşturmak için dengesiz fisyon (bölünme) ve füzyon (birleşme) döngüleri oluşur (64). Füzyon, hasar görmüş mitokondri içeriğini karıştırarak stresi azaltmaya yardımcı olur. Fisyon, hasarlı mitokondrinin çıkarılmasını sağlar ve yeni mitokondri oluşumu için gereklidir. Fisyon kaybı ile büyük mitokondri ağları oluşur. Yüksek düzeyde hücresel strese aşırı bölünme sonucu, apoptotik hücre ölümünü kolaylaştıran küçük, parçalanmış mitokondriler meydana gelir. ATP

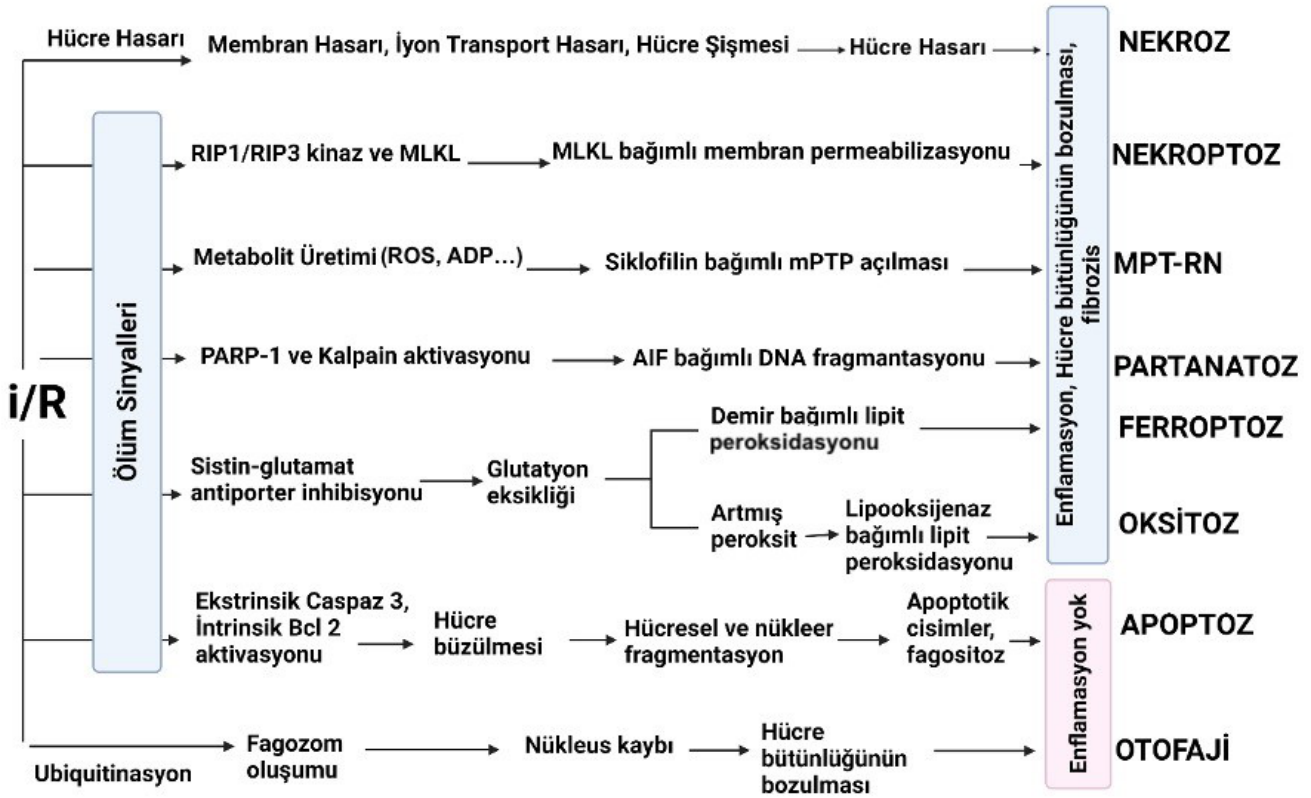
seviyelerinde iskemiye bağlı azalmalar ve artan mitokondriyal ROS üretimi bu organellerin bölünmesini teşvik ederek, apoptotik hücre ölümüne katkıda bulunur. Mitokondriyal fisyonun inhibisyonu, İ/R kaynaklı mPTP'nin açılmasını önler (65). Füzyon işlemleri optik atrofi proteini, mitofusin 1 ve 2 tarafından gerçekleştirilir. Fisyon işlemlerinde ise dynamin ilişkili protein 1 (Drp1) ve Drp hedefi molekül fisyon 1 (Fis1) görev alır (66).

2. İskemi Reperfüzyonda Hücre Ölüm Modelleri

İ/R sürecinde hücre, meydana gelen stres ile baş edemez ise hücrede ölüm meydana gelir. Hücreyi ölüme sürükleyen temel mekanizmalar apoptoz, otofaji ve nekrozdur (Şekil 1).

2.1. Apoptoz

Morfolojik olarak membran kabarması, hücre küçülmesi, sitozol ve çekirdeğin yoğunlaşması sonucu hücrenin parçalara ayrılarak apoptotik cisimlerin olduğu hücre ölümü şeklidir (Şekil 1) (1,67). Apoptotik cisimler, hücre zarlarıyla çevrili olduklarından inflamatuvar bir tepkiye neden olmadan fagositler tarafından sindirilmesi sonucu hücre ölümü gerçekleşir. Apoptotik hücre ölümünün altında yatan hücre sinyal mekanizmaları, ekstrinsik ve



Şekil 1. İ/R'de hücre ölüm yolları: İ/R'da ölüm sinyalleri bir taraftan hücreyi enflamasyon aracılı nekroz, nekroptoz, MPT-RN, partanatoz, ferroptoz ve oksitoza sürüklerken, diğer taraftan enflamasyonun görülmediği apoptoz ve otofajiye neden olur. Şekil Biorender.com isimli web sitesinden alınmıştır

intrinsik yollar aracılığıyla gerçekleşir (Şekil 1). Her iki yol arasında birçok biyokimyasal ve fonksiyonel bağlantı vardır (68). Ekstrinsik veya ölüm reseptör yolu, proinflatuar reseptörlere bağlanan Fas, (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) ve tümör nekroz faktör (TNF)-alfa gibi ligandların trimerizasyonuna sebep olarak, Fas-associated death-domain protein (FADD) ve TNF-receptor-associated death-domain protein (TRADD) gibi ölüme neden olan sinyal iletim kompleksini aktive eder. Bu reseptör kompleksi de kaspaz-8 üzerinden kaspaz-3'ü aktive eder. Bunun sonucunda, kaspaz-3 apoptoz oluşturmak için birçok hücrel proteinini hidroliz eder (1,68,69). Oksidatif stres gibi sitotoksik uyarılara yanıt olarak, intrinsik veya mitokondriyal yol aktive olur (Şekil 1). Bu yol, iskemik hücrelerde, prodeath Bcl-2 proteinlerinin (Bax, Bak, Bid, BNIP3 ve Puma) aktivasyonu, artışı, translokasyonu ve mitokondriyal membranla bütünleşmesiyle gerçekleşir (1,67,68). Bununla birlikte, iskemik kendi başına Bcl-2 proteinlerinin aktivasyonu için yeterli değildir. Çünkü bu proteinlerin çoğu redoksa duyarlıdır ve reperfüzyon ile tetiklenen oksidatif strese ihtiyacı vardır (1). Prodeath proteinlerin membranla bütünleşmesiyle dış zar geçirgen hale gelerek, zarlar arası boşluktan pro-apoptotik proteinler sitokrom c, Smac/DIABLO, Omi/HtrA2 ve endonükleaz-G salınır. Sitokrom c, kaspaz 9 ve kaspaz 3 proteaz sistemini aktive eden ve hücrel protein bölünmesine neden olan apoptozomun birleşmesini uyarmak için sitozolik protein APAF1'e bağlanır. Kaspaz aktivasyonu aynı zamanda Smac/DIABLO ve Omi/HtrA2'ye bağlı mekanizmalar tarafından da meydana gelir, ancak bu prodeath proteinler bu olayı kaspaz inhibitör proteinlerini ayırarak veya sindirerek yapar. Bu apoptoz formunun DNA fragmentasyonuna endonükleaz-G aracılık eder (68). Jeremis ve arkadaşları yapmış olduğu kardiyak İ/R modelinde, Fas, TNF reseptörü 1 veya TNF receptor-associated factor 1 (TRAF1)'den yoksun farelerin, yabancı tip farelere göre daha küçük enfarktüs boyutları sergilediğini göstererek, apoptozun ölüm reseptör yolu üzerinden gerçekleştiğini açıklamışlardır (69). Hochhauser ve arkadaşları da, küçük bir Omi/Htr2 inhibitörü ile tedavi edilen Bax nakavt kardiyak İ/R modeli farelerde daha küçük boyutlu enfarktüsler kaydederek, apoptozun mitokondriyal yol aracılığıyla gerçekleştiğini göstermiştir (70).

2.2. Otofaji

Hasar görmüş veya yaşlanmış protein kümelerini ve organelleri otofagozomlara paketleyerek, genellikle bir inflamatuvar tepkiye neden olmadan, lizozomlarla yıkma işlemidir. Hücrede bu temizlik süreci sürekli devam eder. İ/R sürecinde ATP eksikliği, oksidatif stres ve ER stresi gibi durumlar otofajiyi tetikler (Şekil 1). Otofaji, iskemik süre-

since besinden ve oksijenden yoksun olan hücrelere enerji seviyelerini korumak için substrat sağlayarak, hücrel hayatta kalmayı kolaylaştırır (1,71,72). İskemi süresi uzarsa, kritik hücrel bileşenlerin otofajik bozunma derecesi artar ve postiskemik hasar sonucu hücre ölür. Otofaji, esas olarak süreci inhibe eden rapamisin (mTOR) tarafından düzenlenir. Bununla birlikte, bu negatif düzenleme, besin yokluğu veya oksidatif stres gibi İ/R ile ilişkili koşullar altında inhibe edilir yani mTOR inaktive edilir (73,74). Bu, sırayla Vps150, Atg14 ve beclin-1'e bağlanan bir sınıf III fosfatidil inozitol 3 kinaz olan Vps34'ün aktivasyonu ile fagozor oluşumunu başlatan birkaç kinazı (Atg1, Atg13 ve Atg17) azaltır. Bu kompleks, izolasyon zarının olgun veziküller otofagozomu oluşturmak üzere genişlemesi için gerekli olan diğer düzenleyici proteinleri görevlendirir. Otofagozomun bir lizozomla füzyonu, küçük GTPaz Rab7 ve lizozomal membran proteinini lysosome-associated membrane protein-2 (LAMP2)'ye bağlı bir mekanizma ile gerçekleşir (73-75). Mitofaji, mitokondrinin otofaji olmasıdır. Yani yıpranan mitokondrinin zar ile çevrilerek, lizozom enzimleriyle parçalanmasıdır. Hasarlı mitokondrinin otofagozomlara ayrılmasını kolaylaştıran parkin ve PTEN-induced kinase 1 (PINK1) içeren hücrel sinyal mekanizmaları ile otofajiden farklılaşır. İ/R, parkin protein düzeylerindeki azalmalarla ilişkilidir. Bu da azalmış mitofaji sonucu hasarlı mitokondri birikimine ve ardından hücre ölümüne sebep olur (1,76).

2.3. Nekroz

Morfolojik olarak hücrelerin ve onları oluşturan organellerin nükleer fragmentasyon olmadan şişmesi, mitokondriyal hasar, plazma zarı yırtılması ve intraselüler içeriğin sızmasıyla oluşan hücre ölümüdür (Şekil 1). Doku homeostazisini korumak için fizyolojik programlanmış nekroz embriyonik dönemde, patolojik durumlarda meydana gelen düzenlenmiş nekroz ise İ/R gibi patolojik şartlarda oluşur. Hücreler, nekroptoz, mitokondriyal geçirgenliğe bağlı düzenlenmiş nekroz (MPT-RN) ve partanatoz terimleri ile tanımlanan en az üç ayrı sinyal yolunun aktivasyonu ile İ/R tarafından düzenlenmiş nekroza yönlendirilebilir (Şekil 1) (77-79). Nekroptoz, hücre stresi veya TNF reseptörü 1, Fas reseptörü gibi ölüm reseptörlerinin ligasyonu ile aktive edilir ve reseptör etkileşimli protein kinazlar (RIPK) adı verilen bir grup serin/treonin kinazın aktivasyonuna yol açar (Şekil 1). RIPK1 ve RIPK3, hücre ölümüyle sonuçlanan karmaşık bir sinyal yolu aracılığıyla NADPH oksidazlar veya mitokondriyal oksidan üretiminin uyarılması yoluyla oksidatif stresi artırır. Ayrıca, RIP3 psödokinaz benzeri proteini (MLKL) fosforile ederek nekroptozu neden olur (80). Nekrostatin-1, RIP1 kinaz aktivitesini inhibe ederek İ/R ile

indüklenen hücre ölümünü azaltır. RIP aracılı nekrozun diğer hedefi mPTP'dir (80,81). Daha önce bahsettiğimiz gibi, iç mitokondriyal membrandaki bu büyük, spesifik olmayan kanal normalde kapalıdır, ancak İ/R sırasında aşırı ROS üretimine ve mitokondriyal matriks Ca^{+2} seviyelerindeki aşırı artışlara yanıt olarak açılır (67). İç zarın permeabilitesi aniden artar ve bu da $\Delta\Psi_m$ 'ni bozar. Bu olay, ATP tükenmesi, daha fazla ROS üretimi ve nihayetinde mitokondride şişme ve yırtılma ile sonuçlanır. Bu ölüm siklofilin D'ye bağlıdır ve MPT-RN olarak adlandırılan ikinci bir düzenlenmiş nekroz formunu oluşturur (Şekil 1) (67, 78,81). Partanatoz olarak adlandırılan hücre ölüm modeli, üçüncü bir düzenlenmiş nekroz formunu temsil eder (Şekil 1). Partanatoz, oksidanlar, alkilleyici ajanlar, İ/R gibi genotoksik stresler ile aktive edilir ve bu da DNA onarım enzimi poli (ADP-riboz) polimeraz-1'in (PARP1) aşırı uyarılmasına yol açar (82). PARP1, kalpainini aktive ederek, apoptoz indükleyici faktörün (AIF) mitokondriden salınmasına sebep olur. AIF daha sonra çekirdeğe hareket eder ve DNA'yı bozar (83). Ferroptoz ve oksitoz, İ/R'de apoptotik olmayan hücre ölümünün iki formudur (Şekil 1). Her iki tip de sistin-glutamat antiporter sistemi ve lipid peroksidasyonu mekanizmalarını paylaşır, ancak oksitoza katılan lipoksijenazlar ile birbirinden ayrılır. Ferroptoz, demire bağlı lipid peroksidasyonu ile karakterize edilen bir hücre ölüm

Yazarlık Katkısı: Fikir/Hipotez: ÜGB, AK, MA Tasarım: ÜGB, AK, MA Veri toplama/Veri işleme: ÜGB Veri analizi: ÜGB Makalenin hazırlanması: ÜGB Makalenin kontrolü: AK, MA

Etik Kurul Onayı: Gerekli değildir.

Hasta Onayı: Gerekli değildir.

Hakem Değerlendirmesi: İlgili alan editörü tarafından atanan iki farklı kurumda çalışan bağımsız hakemler tarafından değerlendirilmiştir.

Kaynaklar

1. Kalogeris T, Baines PC, Krenz M, Korthuis RJ. Ischemia/Reperfusion. *Comprehensive Physiology* 2016;7:113-170.
2. Wu L, Xiong X, Wu X et al. Targeting Oxidative Stress and Inflammation to Prevent Ischemia-Reperfusion Injury. *Frontiers in Molecular Neuroscience* 2020;13:1-34.
3. Mukherjee A, Sarkar S, Jana S, Swarnakar S, Das N. Neuroprotective role of nanocapsulated curcumin against cerebral ischemia-reperfusion induced oxidative injury. *Brain Research* 2019;1704:164-173.
4. Shiyong L, Dawei J, Zachary TR et al. Aptamer-Conjugated Framework Nucleic Acids for the Repair of Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury. *Nano Letters* 2019;19:7334-7341.

yöntemidir (79). Oksitoz, 12- ve 15-lipoksijenazların hücre membranlarına translokasyonu ile ilişkili peroksit artışı sonucu mitokondride lipid bileşenlerinin peroksidasyonudur. Programlanmış hücre ölümünün bu formunun, inme ve miyokard enfarktüsünde, lipoksijenaz inhibitörlerinin kullanımı veya 15-lipoksijenazın genetik ablasyonu yoluyla meydana geldiği gösterilmiştir (84, 85).

İ/R'da apoptoz, otofaji ve beş düzenlenmiş nekroz formu (nekroptoz, MPT-RN, partanatoz, ferroptoz ve oksitoz) hücreleri ölüme sürüklemektedir (Şekil 1). Nekrozla ölen hücre sayısı, apoptozla ölen hücreye göre daha fazla olmakla birlikte, her bir ölüm mekanizmasına hangi dokuların daha fazla duyarlı olduğu henüz tam olarak bilinmemektedir (1). Hücresel stres tepkileri, hücrenin hayatta kalmasını sağlamak ve hasarlı-istenmeyen hücreleri ortadan kaldırma noktasında fizyolojinin önemli bir parçasıdır. Stresin hücre ölümünü veya hücre hayatta kalma programlarını tetikleyip tetiklemediği hücre tipine ve maruz kalınan İ/R'un süresine bağlıdır. Bu süreçte altta yatan moleküler mekanizmaların anlaşılması hücre ölümünü engelleyerek hayatta kalma programlarına olanak sağlamaktadır. Stres tepkilerinin mekanik temeline ilişkin olaylar dizisi moleküler hedefli tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi için yeni perspektifler açacak ve hücre ölüm mekanizmalarını önlemek için yeni ajanların keşfine olanak sağlayacaktır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

5. Wang Y, Luo J, Li SY. Nano-Curcumin Simultaneously Protects the Blood-Brain Barrier and Reduces M1 Microglial Activation During Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury. *ACS Appl Mater Interfaces* 2019;11:3763-3770.
6. Xu X, Zhang L, Ye X et al. Nrf2/ARE pathway inhibits ROS-induced NLRP3 inflammasome activation in BV2 cells after cerebral ischemia reperfusion. *Inflammation Research* 2018; 67:57-65.
7. Xing P, Ma K, Wu J, Long W, Wang D. Protective effect of polysaccharide peptide on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. *Molecular Medicine Reports* 2018;18:5371-5378.

8. Kryl'skii ED, Popova TN, Safonova OA, Stolyarova AO, Razuvaev GA, Carvalho MAP. Transcriptional Regulation of Antioxidant Enzymes Activity and Modulation of Oxidative Stress by Melatonin in Rats Under Cerebral Ischemia/Reperfusion Conditions. *Neuroscience* 2019;406:653-666.
9. Lorente L, Martín MM, Pérez-Cejas A et al. Association between total antioxidant capacity and mortality in ischemic stroke patients. *Annals of Intensive Care* 2016;6:39.
10. Deng H, Zuo X, Zhang J et al. A-lipoic acid protects against cerebral ischemia/reperfusion-induced injury in rats. *Molecular Medicine Reports* 2015;11:3659-3665.
11. Lin HC, Narasimhan P, Liu SY, Chan PH, Lai I. Postconditioning mitigates cell death following oxygen and glucose deprivation in PC12 cells and forebrain reperfusion injury in rats. *Journal of Neuroscience Research* 2015;93:140-148.
12. Touyz RM. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance? *Hypertension* 2004;44:248-252.
13. Pérez-Torres I, Guarner-Lans V, Rubio-Ruiz ME. Reductive Stress in Inflammation-Associated Diseases and the Pro-Oxidant Effect of Antioxidant Agents. *International Journal of Molecular Science* 2017;8:2098.
14. Alp N, Channon KM. Regulation of endothelial nitric oxide synthase by tetrahydrobiopterin in vascular disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2004;24:413-420.
15. Vallance P. Endothelial regulation of vascular tone. *Postgraduate Medical Journal* 1992;68:697-701.
16. Pérez-Torres I, Manzano-Pech L, Rubio-Ruiz ME, Soto ME, Guarner-Lans V. Nitrosative Stress and Its Association with Cardiometabolic Disorders. *Molecules* 2020;25:2555.
17. Shiva S, Sack MN, Greer JJ et al. Nitrite augments tolerance to ischemia/reperfusion injury via the modulation of mitochondrial electron transfer. *Journal of Experimental Medicine* 2007;204:2089-2102.
18. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews* 2007;87:315-424.
19. Samdani AF, Dawson TD, Dawson VL. Nitric Oxide Synthase in Models of Focal Ischemia. *Stroke* 1997;28:1283-1288.
20. Huang Z, Huang PL, Ma J et al. Enlarged Infarcts in Endothelial Nitric Oxide Synthase Knockout Mice are Attenuated by Nitro-L-Arginine. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 1996;16:981-987.
21. Chabrier P, Auguet M, Spinnewyn B et al. BN 80933, a dual inhibitor of neuronal nitric oxide synthase and lipid peroxidation: A promising neuroprotective strategy. *PNAS* 1999;96:10824-10829.
22. Parmentier S, Böhme GA, Lerouet D et al. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase prevents ischaemic brain injury. *British Journal of Pharmacology* 2009;127:546-552.
23. Benhar M, Forrester M, Stamler JS. Protein denitrosylation: enzymatic mechanisms and cellular functions. *Nature reviews molecular cell biology* 2009;10:721-732.
24. Lima B, Forrester TM, Hess TD, Stamler JS. S-Nitrosylation in Cardiovascular Signaling. *Circulation Research* 2011;106:633-646.
25. Sun J, Murphy E. Protein S-nitrosylation and cardioprotection. *Circulation Research* 2010;106:285-296.
26. Greenacre SAB, Ischiropoulos H. Tyrosine nitration: Localisation, quantification, consequences for protein function and signal transduction. *Free radical research* 2001;34:541-581.
27. Zielonka J, Sikora A, Joseph J, Kalyanaraman B. Peroxynitrite is the major species formed from different flux ratios of co-generated nitric oxide and superoxide: direct reaction with boronate-based fluorescent probe. *The Journal of Biological Chemistry* 2010;285:14210-14216.
28. Moroa MA, Almeida A, Bolaños JP, Lizasoain I. Mitochondrial respiratory chain and free radical generation in stroke. *Free Radical Biology and Medicine* 2005;39:1291-1304.
29. Shi H, Noguchi N, Xu Y, Niki E. Formation of Phospholipid Hydroperoxides and Its Inhibition by α -Tocopherol in Rat Brain Synaptosomes Induced by Peroxynitrite. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1999;257:651-656.
30. Nanetti L, Taffi R, Vignini A et al. Reactive oxygen species plasmatic levels in ischemic stroke. *Molecular and cellular biochemistry* 2007;303:19-25.
31. Paolucci N, Ekelund U, Isoda T et al. cGMP-independent inotropic effects of nitric oxide and peroxynitrite donors: potential role for nitrosylation. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2000;279:1982-1988.
32. Ischiropoulos H. Biological selectivity and functional aspects of protein tyrosine nitration. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2003;305:776-783.
33. Fajardo NMP, Meijer C, Kruyt FAE. The endoplasmic reticulum stress/unfolded protein response in gliomagenesis, tumor progression and as a therapeutic target in glioblastoma. *Biochemical Pharmacology* 2016;118:1-8.
34. Urano F, Wang X, Bertolotti A et al. Coupling of Stress in the ER to Activation of JNK Protein Kinases by Transmembrane Protein Kinase IRE1. *Science* 2000;287:664-666.
35. Yoneda T, Imaizumi K, Oono K et al. Activation of Caspase-12, an Endoplasmic Reticulum (ER) Resident Caspase, through Tumor Necrosis Factor Receptor-associated Factor 2-dependent Mechanism in Response to the ER Stress. *Journal of Biological Chemistry* 2001;276:3935-13940.
36. Martindale JJ, Fernandez R, Thuerauf D et al. Endoplasmic Reticulum Stress Gene Induction and Protection From Ischemia/Reperfusion Injury in the Hearts of Transgenic Mice With a Tamoxifen-Regulated Form of ATF6. *Circulation Research* 2006;98:1186-1193.
37. Ishida KS, Nakajima M, Uemura K, Yoshida K. Ischemic preconditioning protects cardiomyocytes against ischemic injury by inducing GRP78. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2006;345:1600-1605.
38. Weigand K, Brost S, Steinebrunner N, Büchler M, Schemmer P, Müller M. Ischemia/Reperfusion Injury in Liver Surgery and Transplantation: Pathophysiology. *Hepato-Pancreato-Biliary (HPB) Surgery* 2012;176723:1-8.
39. Hartley T, Siva M, Lai E, Teodoro T, Zhang L, Volchuk A. Endoplasmic reticulum stress response in an INS-1 pancreatic beta-cell line with inducible expression of a folding-deficient proinsulin. *BMC Molecular and Cell Biology* 2010;11:1-18.

40. Szegezdi E, Duffy A, O'Mahoney ME et al. ER stress contributes to ischemia-induced cardiomyocyte apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2006;349:1406-1411.
41. Ruan Y, Zeng J, Jin Q et al. Endoplasmic reticulum stress serves an important role in cardiac ischemia/reperfusion injury. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2020;20:268.
42. Murphy E, Steenbergen C. Mechanisms underlying acute protection from cardiac ischemia-reperfusion injury. *Physiological Reviews* 2008;88:581-609.
43. Tabas I, Ron D. Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress. *Nature Cell Biology* 2011;13:184-190.
44. Vitadello M, Penzo D, Petronilli V et al. Overexpression of the stress protein Grp94 reduces cardiomyocyte necrosis due to calcium overload and simulated ischemia. *The FASEB Journal* 2003;17:923-925.
45. Zheng D, Wang G, Li S, Fan G, Peng T. Calpain-1 induces endoplasmic reticulum stress in promoting cardiomyocyte apoptosis following hypoxia/reoxygenation. *Biochimica et Biophysica Acta* 2015;1852:882-892.
46. Muñoz JP, Ivanova S, Sánchez-Wandelmer J et al. Mfn2 modulates the UPR and mitochondrial function via repression of PERK. *The EMBO Journal* 2013;32:2348-2361.
47. Cao L, Chen Y, Zhang Z, Li Y, Zhao P. Endoplasmic Reticulum Stress-Induced NLRP1 Inflammasome Activation Contributes to Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury. *Shock* 2019;51:511-518.
48. Yi Y. Role of inflammasomes in inflammatory autoimmune rheumatic diseases. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology* 2018;22:1-15.
49. Zhang G, Wang X, Gillette TG, Deng Y, Wang Z. Unfolded Protein Response as a Therapeutic Target in Cardiovascular Disease. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 2019;19:1902-1917.
50. Asada R, Kanemoto S, Kondo S, Saito A, Imaizumi K. The signalling from endoplasmic reticulum-resident bZIP transcription factors involved in diverse cellular physiology. *Journal of Biochemistry* 2011;149:507-518.
51. Jin JK, Blackwood EA, Azizi K et al. ATF6 Decreases Myocardial Ischemia/Reperfusion Damage and Links ER Stress and Oxidative Stress Signaling Pathways in the Heart. *Circulation Research* 2017;120:862-875.
52. Zhang C, Tang Y, Li Y et al. Unfolded protein response plays a critical role in heart damage after myocardial ischemia/reperfusion in rats. *PLoS One* 2017;12:e0179042.
53. Ibuki T, Yamasaki Y, Mizuguchi H, Sokabe M. Protective effects of XBP1 against oxygen and glucose deprivation/reoxygenation injury in rat primary hippocampal neurons. *Neuroscience* 2012;518:45-48.
54. 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. *Molecular and Cellular Biology* 2001;21:1249-12559.
55. 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:e39586.
56. Meyer G, Martinet W. Autophagy in the cardiovascular system. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 2009;1793:1485-1495.
57. Newmeyer DD, Ferguson-Miller S. Mitochondria: releasing power for life and unleashing the machineries of death. *Cell* 2003;112:481-490.
58. Di Lisa F, Canton M, Menabò R, Kaludercic N, Bernardi P. Mitochondria and cardioprotection. *Heart Failure Reviews* 2007;12:249-260.
59. Grover GJ, Atwal KS, Sleph PG et al. Excessive ATP hydrolysis in ischemic myocardium by mitochondrial F₁F₀-ATPase: effect of selective pharmacological inhibition of mitochondrial ATPase hydrolase activity. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory* 2004;287:1747-1755.
60. Sesti C, Simkhovich BZ, Kalvinsh I, Kloner RA. Mildronate, a novel fatty acid oxidation inhibitor and antianginal agent, reduces myocardial infarct size without affecting hemodynamics. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 2006;47:493-499.
61. Lisa FD, Kaludercic N, Carpi A, Menabo R, Giorgio M. Mitochondrial pathways for ROS formation and myocardial injury: the relevance of p66(Shc) and monoamine oxidase. *Basic Research in Cardiology* 2009;104:131-139.
62. Dunn JD, Alvarez LA, Zhang X, Soldati T. Reactive oxygen species and mitochondria: A nexus of cellular homeostasis. *Redox Biology* 2015;6:472-485.
63. Giedt RJ, Yang C, Zweier JL, Matzavinos A, Alevriadou BR. Mitochondrial fission in endothelial cells after simulated ischemia/reperfusion: role of nitric oxide and reactive oxygen species. *Free Radical Biology Medicine* 2012;52:348-356.
64. Chen L, Knowlton AA. Mitochondria and heart failure: new insights into an energetic problem. *Minerva Cardioangiologica* 2010;8:213-229.
65. Ong SB, Subrayan S, Lim SY, Yellon DM, Davidson SM, Hausenloy DJ. Inhibiting mitochondrial fission protects the heart against ischemia/reperfusion injury. *Circulation* 2010;121:2012-2022.
66. Lejay A, Meyer A, Schlagowski AI et al. Mitochondria: mitochondrial participation in ischemia-reperfusion injury in skeletal muscle. *International Journal of Biochemistry Cell Biology* 2014;50:101-105.
67. Kroemer G, Galluzzi L, Brenner C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiological Reviews* 2007;87:99-163.
68. Broughton BR, Reutens DC, Sobey CG. Apoptotic mechanisms after cerebral ischemia. *Stroke* 2009;40:e331-339.
69. Galle PR, Hofmann WJ, Walczak H et al. Involvement of the CD95 (APO-1/Fas) receptor and ligand in liver damage. *The Journal of Experimental Medicine* 1995;182:1223-1230.
70. Hochhauser E, Cheporko Y, Yasovich N et al. Bax deficiency reduces infarct size and improves long-term function after myocardial infarction. *Cell Biochemistry and Biophysics* 2007;47:11-20.

71. Sciarretta S, Yee D, Ammann P et al. Role of NADPH oxidase in the regulation of autophagy in cardiomyocytes. *Clinical Science (Lond)* 2015;128:387-403.
72. Cardinal J, Pan P, Tsung A. Protective role of cisplatin in ischemic liver injury through induction of autophagy. *Autophagy* 2009;5:1211-1212.
73. Gottlieb RA, Gustafsson AB. Mitochondrial turnover in the heart. *Biochimica Biophysica Acta* 2011;1813:1295-1301.
74. Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell* 2008;132:27-42.
75. He B, Xiao J, Ren AJ et al. Role of miR-1 and miR-133a in myocardial ischemic postconditioning. *Journal of Biomedical Science* 2011;18:22.
76. Mengesdorf T, Jensen PH, Mies G, Aufenberg J, Paschen W. Down-regulation of parkin protein in transient focal cerebral ischemia: A link between stroke and degenerative disease? *PNAS* 2002;99:15042-15047.
77. Andrabi SA, Dawson TM, Dawson VL. Mitochondrial and nuclear cross talk in cell death: parthanatos. *Annals Of The New York Academy Of Sciences* 2008;1147:233-241.
78. Halestrap AP. A pore way to die: the role of mitochondria in reperfusion injury and cardioprotection. *Biochemical Society Transactions* 2010;38:841-860.
79. Cao JY, Dixon SJ. Mechanisms of ferroptosis. *Cellular and Molecular Life Science* 2016;73:2195-2209.
80. Smith CC, Yellon DM. Necroptosis, necrostatins and tissue injury. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 2011;15:1797-1806.
81. Ong SB, Samangouei P, Kalkhoran SB, Hausenloy D. The mitochondrial permeability transition pore and its role in myocardial ischemia reperfusion injury. *Journal of Cellular and Molecular Cardiology* 2015;78:23-34.
82. Fasanaro P, Greco S, Ivan M, Capogrossi MC, Martelli F. microRNA: emerging therapeutic targets in acute ischemic diseases. *Pharmacology Therapeutics* 2010;125:92-104.
83. Wang Y, Dawson VL, Dawson TM. Poly(ADP-ribose) signals to mitochondrial AIF: a key event in parthanatos. *Experimental Neurology* 2009;218:193-202.
84. Pallast S, Arai K, Pekcec A et al. Increased nuclear apoptosis-inducing factor after transient focal ischemia: a 12/15-lipoxygenase-dependent organelle damage pathway. *Journal Of Cerebral Blood Flow And Metabolism* 2010;30:1157-1167.
85. Conrad M, Angeli JP, Vandenabeele P, Stockwell BR. Regulated necrosis: disease relevance and therapeutic opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery* 2016;15:348-366.