



Hücre Sinyalizasyonunda Biyokimyasal Mekanizmalar: İnterkinal Yolaklar ve İlaç Geliştirme

Ahmet İLHAN¹ 

¹Cukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

ORCID: 0000-0003-2896-6280

Sorumlu Yazar/Corresponding Author:

dr.ahmetilhan.biyokimya@gmail.com

Başvuru/Submitted: 14/05/2024

1. Revizyon/1st Revised: 22/05/2024

Kabul/Accepted: 27/05/2024

Yayın/Online Published: 28/06/2024

Atıf/Citation: İlhan, A. (2024). Hücre Sinyalizasyonunda Biyokimyasal Mekanizmalar: İnterkinal Yolaklar ve İlaç Geliştirme. Kafkasya Journal of Health Sciences, 1(1); 6-9.

Doi: [10.5281/zenodo.12510601](https://doi.org/10.5281/zenodo.12510601)

Öz

Bu derleme çalışması, hücre sinyal yollarındaki biyomoleküler mekanizmaları ve hücreler arası iletişim yollarının ilaç geliştirme potansiyellerini incelemektedir. Çalışma, sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri gibi interkinal moleküllerin hücreler arası iletişimdeki rolünü vurgulamaktadır. Gözlemler, bu iletişim yollarının sağlıklı hücre fonksiyonları için kritik olduğunu ve dengesizliklerinin çeşitli hastalıklara yol açabileceğini göstermektedir. Çalışma, ilaç geliştirme süreçlerinde interkinal yolakların nasıl kullanılabileceğini örneklerle açıklamaktadır. Bunlar arasında anti-enflamatuar ilaçlar, bağışıklık sistemi modülatörleri, kanser tedavisi ve nörolojik hastalıkların tedavisi yer almaktadır. Bulgular, hücreler arası iletişim yollarının yeni ilaçların geliştirilmesinde önemli bir hedef olduğunu ve çeşitli hastalıkların tedavisi için umut vadettiğini göstermektedir. Çalışma, hücre sinyal yollarında ve hücreler arası iletişim yollarında yer alan moleküler mekanizmaların daha iyi anlaşılmasının, hastalıkların etkili tedavisi için yeni stratejilerin geliştirilmesine yol açabileceğini vurgulamaktadır. Ancak, bu alandaki araştırmaların devam etmesi ve potansiyel sınırlamaların ve yan etkilerin anlaşılması için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Büyüme Faktörü, Kemokin, Sitokin, Sinyal iletimi.

Biochemical Mechanisms in Cell Signaling: Interquinal Pathways and Drug Development

Abstract

This review study examines the biomolecular mechanisms in cell signaling pathways and the drug development potential of intercellular communication pathways. The study highlights the role of interquinal molecules such as cytokines, chemokines, and growth factors in intercellular communication. Observations show that these communication pathways are critical for healthy cell functions, and their imbalance can lead to various diseases. The study explains with examples how interquinal pathways can be used in drug development processes. These include anti-inflammatory drugs, immune system modulators, cancer treatment and treatment of neurological diseases. The findings show that intercellular communication pathways are an important target in the development of new drugs and hold promise for the treatment of various diseases. The study highlights that a better understanding of the molecular mechanisms involved in cell signaling pathways and intercellular communication pathways may lead to the development of new strategies for the effective treatment of diseases. However, research in this area continues and more studies are needed to understand potential limitations and side effects.

Keywords: Cytokine, Chemokine, Growth Factor, Signal transduction.



GİRİŞ

Hücre sinyalizasyonu, hücreler arasında ve hücreler içinde olan iletişim mekanizmalarının karmaşık bir ağıdır. Bu süreçler, hücrelerin fizyolojik işlevlerini düzenlemek ve koordine etmek için çeşitli biyokimyasal mekanizmalarla gerçekleştirilir. Hücre sinyalizasyonu, hücrelerin çevreleriyle etkileşimde bulunarak büyüme, çoğalma, farklılaşma, metabolizma ve cevap verme gibi önemli işlevleri gerçekleştirmesini sağlar. Bu nedenle, hücre sinyalizasyonunun temel prensiplerini ve bu süreçlerin biyokimyasal mekanizmalarını anlamak, tıbbi biyokimyanın önemli bir alanı olan hücre sinyalizasyonunun önemi hakkında daha derin bir anlayışa sahip olmak için temeldir (Rudchenko ve ark., 2023; Fu ve Ma, 2023; Jo ve Kim, 2024; Kagohashi ve ark., 2024; Kuhn ve ark., 2024).

Hücre sinyalizasyonunda biyokimyasal mekanizmalar, hücreler arasında ve hücreler içinde olan iletişim yollarının temel prensiplerini ifade eder. Bu süreçler, hücrelerin çevresel sinyalleri algılaması, bu sinyallere yanıt vermesi ve hücre içindeki moleküler aktivasyonları içerir. Örneğin, hücre yüzeyinde bulunan reseptörler, dış ortamdan gelen sinyalleri algılar ve hücre içinde belirli sinyal transdüksiyon yollarını başlatır. Bu yollar, hücre içindeki hedef moleküllerin aktivasyonunu, gen ekspresyonunu ve hücrel tepkileri düzenleyerek çeşitli hücrel fonksiyonları kontrol eder (Rudchenko ve ark., 2023; Yin ve ark., 2024; Zhu ve ark., 2024).

Hücre sinyalizasyonunda biyokimyasal mekanizmalar üzerine yapılan çalışmalar, son yıllarda büyük ilgi görmüştür. Özellikle, interkinal yolakların hücreler arası iletişimdeki rolü ve bu yolların hastalıkların gelişimindeki etkileri konusunda daha fazla araştırma yapılması gerekliliği ortaya çıkmıştır. Sitokinler, kemokinler, büyüme faktörleri ve diğer interkinal moleküller, hücre sinyalizasyonunda önemli rol oynarlar ve bu moleküllerin dengesiz aktivitesi birçok hastalığın temelinde yer alabilir. Örneğin, otoimmün hastalıklar, kanser, enfeksiyonlar ve inflamasyon gibi durumlar, interkinal yollarındaki anormalliklerle ilişkilendirilmiştir (Adamska ve ark., 2024; Boyko, ve ark., 2024; Liu ve ark., 2024; Matsuoka ve ark., 2024).

Bu derlemenin temel amacı, hücre sinyalizasyonunda biyokimyasal mekanizmaların interkinal yolların hücreler arası iletişimdeki rolünü ve bu yolların hastalıkların gelişimindeki etkilerini incelemektir. Bu inceleme, interkinal yolların hücreler arası iletişimdeki rolü ve bu yolların hastalıkların gelişimindeki etkileri konusunda daha fazla araştırma yapmak önemlidir. Ayrıca, bu derleme, hücre sinyalizasyonunda biyokimyasal mekanizma-

ların ilaç geliştirme süreçlerindeki potansiyel uygulamalarını da ele almaktadır. Bu doğrultuda, interkinal yolların hedef alındığı ilaçların geliştirilmesi, birçok hastalığın tedavisinde önemli bir strateji olarak öne çıkmaktadır.

Araştırma Tasarımı ve Metodoloji

Bu çalışmanın araştırma tasarımı, hücreler arası sinyalleşme yolları ve ilaç geliştirmeye odaklanarak hücre sinyal yolları ve biyomoleküler mekanizmalar hakkındaki literatürün sistematik bir incelemesidir. Hücre sinyal yollarındaki biyokimyasal mekanizmaları anlamak ve ilaç geliştirme potansiyellerini değerlendirmek için, kapsamlı bir araştırma yöntemi izlendi.

Bu çalışmanın araştırma yöntemi, hücre sinyal yolları ve biyomoleküler mekanizmalar üzerine ilgili çalışmaları belirlemek için PubMed, ScienceDirect, Google Scholar gibi saygın bilimsel veri tabanlarının kapsamlı bir şekilde araştırılmasını içermektedir. Bu veri tabanları, güncel bilimsel yayınları içerdiği için güvenilir bir temel oluşturacak ve derlemenin içeriğinin kalitesini artırmaktadır.

Literatür taraması, hücreler arası sinyalleşme yolları ve ilaç gelişimine odaklanarak, hücre sinyal yolları ve biyomoleküler mekanizmalar hakkındaki bilgi durumuna kapsamlı bir genel bakış sağlamaktadır. Bu bakış açısı, derlemenin temelini oluşturacak ve okuyuculara konu hakkında geniş bir perspektif sunmaktadır.

Bu çalışmada, hücre sinyal yolları ve biyomoleküler mekanizmalar üzerine ilgili çalışmaları belirlemek için PubMed, ScienceDirect ve Google Scholar dahil olmak üzere ilgili bilimsel veri tabanlarının kapsamlı bir şekilde taranmıştır. Bu arama süreci, çalışmanın içeriğinin güvenilirliğini ve kalitesini sağlayacak temel verileri sağlamaktadır.

Veri analizi, hücreler arası sinyalleşme yolları ve ilaç geliştirmeye odaklanarak hücre sinyal yolları ve biyomoleküler mekanizmalar hakkındaki literatürün sistematik bir incelemesini içermektedir. Bu analiz, derlemenin temelini oluşturacak ve çalışmanın anahtar bulgularını vurgulamaktadır.

İnterkinal Yolaklar ve İlaç Geliştirme

Sitokinler: Sitokinler, bağışıklık sistemi hücreleri arasında iletişimi sağlayan proteinlerdir ve vücudun çeşitli savunma mekanizmalarında önemli rol oynarlar. Özellikle T hücreleri, B hücreleri, makrofajlar

gibi bağışıklık hücreleri tarafından üretilirler ve hedef hücreler üzerinde çeşitli etkiler gösterirler. İnflamasyon sürecinde ve enfeksiyonlarla mücadelede sitokinlerin düzenleyici işlevi vardır. İlaç geliştirme çalışmalarında, inflamasyonu azaltıcı etki gösteren ve sitokin aktivitesini inhibe eden ilaçlar özellikle romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanılır (Kinaci ve ark., 2024; Ruan ve ark., 2024; Yi ve ark., 2024).

Kemokinler: Kemokinler, bağışıklık hücrelerinin hedeflerine doğru migrasyonunu düzenleyen ve inflamasyon sırasında hücrelerin enfeksiyon bölgesine doğru yönlendirilmesini sağlayan küçük proteinlerdir. Kemokinler, lökositlerin ve diğer bağışıklık hücrelerinin dolaşım ve doku içinde hareketini düzenleyerek bağışıklık tepkilerini koordine ederler. İlaç geliştirme sürecinde, kemokinlerin aktivitesini modüle eden ilaçlar özellikle inflamasyonu kontrol altına almak ve immün hücrelerin doğru yerlere yönlendirilmesini sağlamak amacıyla kullanılır (Cutelle ve ark., 2024; Huang ve ark., 2024; Kinaci ve ark., 2024).

Büyüme Faktörleri: Büyüme faktörleri, hücre büyümesi, çoğalması, farklılaşması ve doku onarımı gibi süreçleri düzenleyen protein veya peptitlerdir. Vücutta birçok farklı büyüme faktörü bulunur ve hücreler arasında iletişim kurarak hücrel büyüme ve doku onarımını kontrol ederler. İlaç geliştirme çalışmalarında, büyüme faktörleri üzerinde etki gösteren ilaçlar özellikle kanser tedavisi ve doku yenilenmesi üzerinde odaklanır. Örneğin, epidermal büyüme faktörü (EGF) reseptör inhibitörleri, belirli kanser tiplerinde büyümeyi engeller ve hücrelerin farklılaşmasını düzenler (Guevara-Aguirre ve ark., 2024; Li ve ark., 2024).

Bu interkinal moleküller, hücreler arasında iletişim kurarak bağışıklık sistemi tepkilerini, hücrel büyüme ve dokuların onarımını düzenlerler. İlaç geliştirme çalışmalarında, bu moleküllerin aktivitesini modüle eden ilaçlar birçok hastalığın tedavisinde hedeflenen önemli bir alanı temsil eder. Özellikle anti-inflamatuvar ilaçlar, bağışıklık sistemi modülatörleri, kanser tedavisi ve nörolojik hastalıkların tedavisinde interkinal yolaklar önemli bir hedef olarak görülür. Bu ilaçlar, interkinal yolak aktivitesini kontrol ederek hastalıkların seyrini etkileyebilir ve tedavi yöntemlerine yenilik getirebilir (Cutelle ve ark., 2024; Jia ve ark., 2024; Kinaci ve ark., 2024; Liao ve ark., 2024; Zeng ve ark., 2024).

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmanın amacı, hücre sinyal yolaklarındaki biyomoleküler mekanizmaların ve hücreler arası iletişim yollarının ilaç geliştirme alanındaki potansiyel uygulamalarına odaklanarak detaylı bir şekilde incelenmesini sağlamaktır. Elde edilen gözlemler, hücreler arası iletişim yollarının hücre sinyal

yolaklarında kritik bir rol oynadığını ve bu yolların bozulmasının çeşitli hastalıklara neden olabileceğini ortaya koymaktadır.

Mevcut bilgiler, hücre sinyal yolakları ve hücreler arası iletişim yollarının moleküler mekanizmalarını ve ilaç geliştirme potansiyellerini anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu göstermektedir (Cao ve Peng, 2022; Dreo ve ark., 2024; Flori ve ark., 2024; Fukasawa ve ark., 2024). Bu konu, çeşitli hastalıkların anlaşılması ve etkili tedavilerin geliştirilmesi için temel bir içgörü sağlamaktadır.

Bu çalışma, hücre sinyal yolaklarında ve hücreler arası iletişim yollarında yer alan moleküler mekanizmaları, diğer sinyal yollarıyla (örneğin, endokrin ve otokrin sinyal yolakları) karşılaştırmaktadır. Elde edilen bulgular, hücreler arası iletişim yollarının yalnızca hücre-hücre sinyal yolaklarında değil, aynı zamanda ilaç geliştirmedeki potansiyel rollerinde de önemli olduğunu göstermektedir (Cao ve Peng, 2022; Love ve ark., 2024; Oyer ve ark., 2024; Sumneang ve ark., 2024).

Çalışmamızın bulguları, hücre sinyal yolaklarında ve hücreler arası iletişim yollarında yer alan moleküler mekanizmaların daha iyi anlaşılmasına ve çeşitli hastalıklar için yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlamaktadır. Ancak, bu bulguların doğrulanması ve ilaç geliştirmede hücreler arası iletişim yollarını hedeflemenin potansiyel sınırlamalarının ve yan etkilerinin anlaşılması için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, bu çalışma hücre sinyal yolaklarındaki hücreler arası iletişim yollarının rolüne ve ilaç geliştirmedeki potansiyel uygulamalarına yeni bir bakış açısı sunmaktadır. Elde edilen bulgular, yeni ilaçların geliştirilmesi ve çeşitli hastalıkların tedavisi için önemli bir temel oluşturmaktadır.

Kaynaklar

- Adamska, P., Pylińska-Dąbrowska, D., Stasiak, M., Kaczoruk-Wieremczuk, M., Kozłowska, E., Zedler, A., & Studniarek, M. (2024). Treatment of Odontogenic Maxillary Sinusitis with the Use of Growth Factors in Advanced Platelet-Rich Fibrin for Immediate Closure of Oro-Antral Communication: A Case Report. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(8), 4339. doi:10.3390/ijms25084339
- Boyko, A., Lange, B., Eckert, S., Mayorov, F., & Brinkmann, R. (2024). Signal Enhancement of a Differential Photoacoustic Cell by Connecting the Microphones via Capillaries. *Sensors*, 24(7), 2105. doi:10.3390/s24072105
- Cao, J., & Peng, Q. (2022). NLRP3 inhibitor tranilast attenuates gestational diabetes mellitus in a genetic mouse model. *Drugs in R&D*, 22(1), 105-112. doi:10.1007/s40268-022-00382-7
- Cutelle, C., De Lorenzo, A., Doneddu, P. E., Creta, M. F., Selmi, C., Liberatore, G., . . . Nobile-Orazio, E. (2024). Cytokines and chemokines in patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy and multifocal motor

- neuropathy: A systematic review. *J Peripher Nerv Syst*. doi:10.1111/jns.12622
- Dreo, B., Muralikrishnan, A. S., Husic, R., Lackner, A., Brugmann, T., Haudum, P., . . . Stradner, M. (2024). JAK/STAT signaling in rheumatoid arthritis leukocytes is uncoupled from serum cytokines in a subset of patients. *Clin Immunol*, 110238. doi:10.1016/j.clim.2024.110238
- Flori, E., Cavallo, A., Mosca, S., Kovacs, D., Cota, C., Zaccarini, M., ... & Cardinali, G. (2024). JAK/STAT Inhibition Normalizes Lipid Composition in 3D Human Epidermal Equivalents Challenged with Th2 Cytokines. *Cells*, 13(9), 760. doi:10.3390/cells13090760
- Fu, L., Yang, M., & Ma, Y. (2023). Regulatory mechanism of interaction between Y-box-binding protein 1 and heterogenous nuclear ribonucleoprotein K in cell division cycle 25a signal pathway and lung cancer metastasis. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 69(14), 62-68. doi:10.14715/cmb/2023.69.14.10
- Fukasawa, T., Yoshizaki-Ogawa, A., Enomoto, A., Sato, S., & Yoshizaki, A. (2024). Apremilast Decreased Proinflammatory Cytokines and Subsequently Increased Inhibitory ones in Psoriasis: A Prospective Cohort Study. *Acta Derm Venereol*, 104, adv37555. doi:10.2340/actadv.v104.37555
- Guevara-Aguirre, J., Mishra, A., Canepa, M., Guevara, C., Villacres, A., Guevara, A., . . . Longo, V. D. (2024). Normal or improved cardiovascular risk factors in IGF-I-deficient adults with growth hormone receptor deficiency. *Med*. doi:10.1016/j.medj.2024.03.022
- Huang, C. G., Liu, Q., Zheng, S. T., Liu, T., Tan, Y. Y., Peng, T. Y., ... & Lu, X. M. (2024). Chemokines and Their Receptors: Predictors of Therapeutic Potential in Tumor Microenvironment on Esophageal Cancer. *Digestive Diseases and Sciences*, 1-9. doi:10.1007/s10620-024-08392-y
- Jia, Y., Jiao, X., Shi, W., Luo, Y., Xiang, H., Liang, J., & Gao, Y. (2024). Expression of 10 circulating cytokines/chemokines in HBV-related liver disease. *Infect Agent Cancer*, 19(1), 20. doi:10.1186/s13027-024-00580-9
- Jo, H., Hong, H., Hwang, H. J., Chang, W., & Kim, J. K. (2024). Density physics-informed neural networks reveal sources of cell heterogeneity in signal transduction. *Patterns (N Y)*, 5(2), 100899. doi:10.1016/j.patter.2023.100899
- Kagohashi, K., Sasaki, Y., Ozawa, K., Tsuchiya, T., Kawahara, S., Saitoh, K., . . . Matsuda, T. (2024). Role of Signal-Transducing Adaptor Protein-1 for T Cell Activation and Pathogenesis of Autoimmune Demyelination and Airway Inflammation. *J Immunol*, 212(6), 951-961. doi:10.4049/jimmunol.2300202
- Kinaci, E., Sevinc, M. M., Demir, A., Erdogan, E., Ahlatci, F. A., & Idiz, U. O. (2024). Changes in cytokines and chemokines in an acute pancreatitis model. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 30(4), 229-235. doi:10.14744/tjtes.2024.18049
- Kuhn, J., Banerjee, P., Haye, A., Robinson, D. N., Iglesias, P. A., & Devreotes, P. N. (2024). Complementary Cytoskeletal Feedback Loops Control Signal Transduction Excitability and Cell Polarity. *bioRxiv*. doi:10.1101/2024.02.13.580131
- Li, Y., Chang, H. M., Zhu, H., Sun, Y. P., & Leung, P. C. K. (2024). EGF-like growth factors upregulate pentraxin 3 expression in human granulosa-lutein cells. *J Ovarian Res*, 17(1), 97. doi:10.1186/s13048-024-01404-5
- Liao, J., Yu, X., Huang, Z., He, Q., Yang, J., Zhang, Y., . . . Tao, Q. (2024). Chemokines and lymphocyte homing in Sjogren's syndrome. *Front Immunol*, 15, 1345381. doi:10.3389/fimmu.2024.1345381
- Liu, B., Si, W., Wei, B., Zhang, X., & Chen, P. (2024). Tumor Necrosis Factor alpha-Induced Protein 8-Like Protein 1 Binds to Protein Arginine Methyltransferase 1 To Suppress the Methylation of Signal Transducer and Activator of Transcription 3 and Cell Growth in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Am J Pathol*. doi:10.1016/j.ajpath.2024.02.010
- Love, M., Behrens-Bradley, N., Ahmad, A., Wertheimer, A., Klotz, S., & Ahmad, N. (2024). Plasma Levels of Secreted Cytokines in Virologically Controlled HIV-Infected Aging Adult Individuals on Long-Term Antiretroviral Therapy. *Viral Immunol*, 37(4), 202-215. doi:10.1089/vim.2023.0123
- Matsuoka, S., Iwamoto, K., Shin, D. Y., & Ueda, M. (2024). Spontaneous signal generation by an excitable system for cell migration. *Front Cell Dev Biol*, 12, 1373609. doi:10.3389/fcell.2024.1373609
- Oyer, J. L., Croom-Perez, T. J., Hasan, M. F., Rivera-Huertas, J. A., Gitto, S. B., Mucha, J. M., . . . Copik, A. J. (2024). PM21-particle stimulation augmented with cytokines enhances NK cell expansion and confers memory-like characteristics with enhanced survival. *Front Immunol*, 15, 1383281. doi:10.3389/fimmu.2024.1383281
- Ruan, W., Zhou, X., Liu, H., Wang, T., Zhang, G., & Lin, K. (2024). Causal role of circulating inflammatory cytokines in cardiac diseases, structure and function. *Heart Lung*, 67, 70-79. doi:10.1016/j.hrtlng.2024.04.018
- Rudchenko, S., Taylor, S., Milosavic, N., Rudchenko, M., Wedderhoff Tissi, B., Mapara, M. Y., & Stojanovic, M. N. (2023). Amplification of Signal on Cell Surfaces in Molecular Cascades. *Cells*, 12(24), 2858. doi:10.3390/cells12242858
- Sumneang, N., Pintha, K., Kongkarnka, S., Suttajit, M., & Kangwan, N. (2024). Protective Effect of Perilla Seed Meal and Perilla Seed Extract against Dextran Sulfate Sodium-Induced Ulcerative Colitis through Suppressing Inflammatory Cytokines in Mice. *Molecules*, 29(9), 1940. doi:10.3390/molecules29091940
- Yi, X., Jia, W., Li, W., Jia, C., & Song, C. (2024). Diagnostic value of cytokines in severe childhood Mycoplasma pneumoniae pneumonia combined with Adenovirus infection. *Ital J Pediatr*, 50(1), 92. doi:10.1186/s13052-024-01661-6
- Yin, J. T., Zhang, M. R., Zhang, S., Yang, S. H., Li, J. P., Liu, Y., . . . Guo, J. M. (2024). Astragalus membranaceus Polysaccharide Regulates Small Intestinal Microbes and Activates IL-22 Signal Pathway to Promote Intestinal Stem Cell Regeneration in Aging Mice. *Am J Chin Med*, 52(2), 513-539. doi:10.1142/S0192415X24500228
- Zeng, Z., Yoshida, Y., Wang, D., Fujii, Y., Shen, M., Mimura, T., & Tanaka, Y. (2024). Inflammatory Cytokines and Chemokines Are Synergistically Induced in a ROS-Dependent Manner by a Co-Culture of Corneal Epithelial Cells and Neutrophil-like Cells in the Presence of Particulate Matter. *Antioxidants*, 13(4), 467. doi:10.3390/antiox13040467
- Zhu, B., Yang, Y., Wang, X., Sun, D., Yang, X., Zhu, X., ... & Yang, X. (2024). Blocking H1R signal aggravates atherosclerosis by promoting inflammation and foam cell formation. *Journal of Molecular Medicine*, 1-11. doi:10.1007/s00109-024-02453-5