

Isı Şok Proteinleri ve Hastalıklardaki Rolü

HEAT SHOCK PROTEINS AND THEIR ROLE IN DISEASES

Yavuz BAYKAL*, Faysal GÖK**, Fikri KOCABALKAN***

* Doç.Dr., GATA İç Hastalıkları BD,

** Dr., GATA İç Hastalıkları BD,

*** Prof.Dr., GATA İç Hastalıkları BD, ANKARA

Özet

Isı şok proteinleri (İŞP) çeşitli fonksiyonları olan bir protein ailesi olup, ortak özellikleri hücrelerin ani sıcaklık değişiklikleri, anoksi, reaktif oksijen metabolitleri ve glukoz düzeylerinde değişiklik gibi çevresel faktörlere maruz kaldıkları zaman üretilmeleridir. İŞP'leri çeşitli stress uyarılarına cevap olarak bütün canlıların hücreleri tarafından üretilen bir grup proteindir. Bu sistem prokaryot ve ökaryotlar arasında oldukça iyi korunmuş olup, başlangıçta bakteri İŞP'lerine karşı oluşan immun cevap, zaman içinde konağın kendisine yönlenebilir. İnsan sinoviyal T hücreleri sıklıkla Mikobakterium tüberkülozisin 65 kD İŞP'nini tanıyıp ve bu antijene karşı antikorlar sıklıkla kanda yüksek olarak bulunur.

Anahtar Kelime: Isı şok proteinleri

T Klin Tıp Bilimleri 2000, 20:187-195

Summary

Heat shock proteins (HSPs) are family of proteins with diverse functions, whose common features that they are produced when a cell is exposed to environmental insults such as a sudden change in temperature, anoxia, reactive oxygen metabolites or altered glucose levels. Heat shock proteins are a group of proteins produced by cells of all species in response to a variety of stressful stimuli. They are highly conserved between prokaryotes and eukaryotes and consequently the host immune response, initially directed against bacterial HSPs could become redirected against its own HSPs. Human synovial T cells frequently recognize Mycobacterium tuberculosis 65kDa HSPs, and antibodies against this antigen are frequently elevated in the blood.

Key Word: Heat shock proteins

T Klin J Med Sci 2000, 20:187-195

Biyoloji ve tıpta önemli bir araştırma konusu olan ısı şok proteinlerinin yapısının evrim boyunca büyük bir özenle korunduğu ve ısı şok cevabının insandan bakteriye kadar tüm canlılarda bulunduğu artık bilinmektedir. Hücreler ani ısı artışı, anoksi, reaktif oksijen bileşikleri ve glukoz düzey değişikliğine maruz kaldıklarında ısı şok proteinleri olarak adlandırılan proteinler sentezlerler (1). Oksidasyon ve toksik bileşenlerin parçalanması gibi pek çok stres faktörleri bütün hücrelerde cevap olarak ısı şok proteinlerinin sentezine neden olur. Bazı bakteriler stres faktörlerinden kendini korumak için yüksek miktarda ısı şok proteini üretirler. Isıya to-

lerans gelişimiyle ilgili veriler bazı bakterilerdeki ısı şok proteinlerinin majör gruplar halinde sınıflandırılmasına neden olmuştur. Hücrelerin 42°C lik fatal olmayan ilk şok doza maruz kaldıktan sonra fetal doz olan 46°C'ye de kolay uyum sağladıkları gözlenmiştir. İlk şoka maruz kalan hücrelerin daha sonra normal protein sentezini durdurarak yeni bazı proteinlerin sentezine başladıkları saptanmıştır. Yüksek ISP düzeyi hastalıklara karşı hücre savunma mekanizmaları uyarılması, gen tedavisi ve şaperon düzenleyici reajanlar gibi tedavi yaklaşımları için muhtemel bir hedef olarak düşünülmektedir (2).

Artmış ısı şok protein seviyeleri mRNA sentezine, stabilitesine ve bu durumun devamına imkan sağlar. Yüksek ısı şok protein seviyeleri sadece stresin başlangıç dönemlerinde görülür. Hücre ilk şoktan sonra yüksek ısıya maruz kalmaya

Geliş Tarihi: 24.05.1999

Yazışma Adresi: Dr.Yavuz BAYKAL
GATA İç Hastalıkları BD
Etlik, ANKARA

Tablo 1. Yüksek ısı dışında stres proteini sentezine neden olan faktörler

*Anoksi
*Oksitleyici ajanlar
*Viral enfeksiyonların hücreyi enfekte etmesi
*Ağır metaller
*Interferon gama uyarımı
*Glikoz yokluğu

devam etse bile, ısı şok protein seviyeleri düşmeye başlar ve sonuçta normal seviyelerine iner. Çevresel faktörler değiştikçe, ısı şok cevabı da farklı adaptasyonların oluşmasına katkıda bulunur. Bu proteinlerin sadece ısı şokuna karşı değil (Tablo 1) hücreye yönelik stres yaratan değişik ajanların saldırılarına karşı da cevap olarak üretimlerinin artması "stres proteinleri" olarak adlandırılmalarına neden olmuştur.

Hücre çeşitli stres faktörleriyle karşılaştığında, hücre mekanizmaları hasardan korumak için hızla yeni proteinleri sentezler. Stres proteinlerinin sadece stres sırasında ortaya çıkmadığı, bazı stres proteinlerinin normal hücrelerde de bulunduğu tespit edilmiştir (3). Stres proteinleri büyüme, farklılaşma, bölünme, hatta hücre ölümü dahil hücre metabolizmasının tüm evrelerinde hayati önem taşır. Stres proteinleri, pek çok patojenik ajanın konakta immün cevap oluşturmasında rol oynayan antijenlerdendir. Stres proteinlerine karşı gelişen immün cevaplar çapraz reaksiyonlar vasıtasıyla hücrenin kendisine karşı da (anti-self) reaksiyon oluşmasına neden olabilmektedir. Sağlıklı bireylerin, enfeksiyon veya herhangi bir şekilde strese maruz kalmış kendi hücrelerinden arınmak için, kendi stres proteinlerine karşı immün cevap verme yeteneklerinden yararlanabildikleri ileri sürülmektedir. İşte bu yeteneklerin düzenlenmesindeki bozukluklar bazı otoimmün hastalıklara yol açabilir. Stres proteinleri, immün cevapta hedef olmanın yanı sıra, antijen sunulmasında da önemli rol oynarlar (4).

Stres Protein Aileleri

Stres proteinleri, molekül ağırlıklarına göre bazı alt gruplara ayrılırlar (Tablo 2). Bir grubun üyeleri sadece büyüklük yönünden değil, başka özellikleriyle de benzerlik gösterirler. Örneğin; İŞP

60 ve İŞP 70 aileleri, ister bakteri, ister küf, ister bitki veya hayvan hücresinde bulunsun benzer fonksiyonlar görürler ve bunların aminoasit sıralanmaları %50'nin üzerinde benzerlik gösterir (5).

Stres Proteinlerinin Fizyolojik Fonksiyonları

Stres proteinlerinin önemi, diğer proteinlerle ilişkiye girip onların fonksiyon ve yapılarını değiştirebilme özelliklerine dayanır. Bu proteinlerin bazı fonksiyonel özellikleri belirlenmiş olup bunlar;

1. İŞP 90 gibi proteinler ligand yokluğunda hormon reseptör bağlayıcı etki gösterirler. Bu moleküller steroid reseptörlerine bağlanarak steroid hormonlar bağlanıncaya kadar steroid reseptörlerin nükleer DNA'ya bağlanmasını engeller. Böylece steroid reseptörler ile DNA arasında zamanından önce oluşacak bir etkileşim önlenmiş olur. Östrojen İŞP 90 ın damar endotel hücrelerinde eNOS'a bağlanmasını uyararak kalsiyum duyarlılığını salınımını arttırırsa da salınımı üzerine etkisi yoktur (11).

2. İŞP 60 ve İŞP 70 ailelerinin bireyleri, hücre içi polipeptidlerin katlanma, açılma ve translokasyonunda olduğu kadar, oligomerik protein komplekslerin toplanma, birleşme ve ayrılmalarında da önemli rol oynar. Bu grup stres proteinleri, sitoplazmik proteinleri açarak mitokondri, kloroplast veya endoplazmik retikulumu taşır ve bu organelerin içinde tekrar katlanmalarını ve gerekiyorsa oligomerik kompleksler halinde birleşmelerini sağlarlar. İŞP 70 endoplazmik retikulum içinde, immüoglobulin hafif zinciriyle birleşme oluncaya kadar, immün globulin ağır zincire bağlı olarak kalır. Böylece, ağır zincirlerin prematür bir şekilde kendi aralarında birleşmesini engeller. Hafif zincir yokluğunda devamlı olarak ağır zincire bağlı kalır ve onu endoplazmik retikulum içinde tutar.

3. İŞP 70 açılmış proteinleri yakalayarak, parçalanmaya hazır hale getirir. Düşük molekül ağırlıklı stres proteini olan ubiquitin'in protein parçalanmasında bizzat rol oynadığı gösterilmiştir. Bu molekülün uyarılabilir formu sitoplazmadaki şaperon etkiyi arttırarak strese tolerans cevabına katkıda bulunur. İŞP 70 ekspresyonu hipertermi, iskemi, epilepsi, kanama ve N-metil D-aspartat reseptör antagonisti verilmesi gibi çeşitli nörotoksik

Tablo 2. Memelilerdeki ısı şok proteinleri ve fonksiyonları

Aile	Fonksiyonları
IŞP 90	En çok yapılandır. IŞP 90b, IŞP 90a'dan daha fazla bulunur. Hedef proteinleri sitoplazmada fikse eder. İnaktif olan steroid reseptörlerin ve kinazların devamlılığını sağlar. Hücrenin yaşam sürecinin yenilenmesini ve immünitelinin devamlılığını sağlayabilir. ATP'yi bağlar, ancak ATPaz aktivitesi bilinmemektedir.
GRP 94	Golgi aparatı ve plazma membranında IŞP 90 benzeri fonksiyonlara sahiptir
IŞP 110	Isı şoku durumunda nükleolustaki rRNA ile bağlantı kurar.
IŞP 70 (IŞP 72-73)	Hücre döngüsünün düzenlenmesinde yer alırlar. IŞP 72 uyarıcı, IŞP 73 ise düzenleyici fonksiyona sahiptir. Her ikisi de hem sitoplazmada, hem de nükleusta yer alır. IŞP 70 ailesi açılmış proteinleri yakalayıp parçalanmaya hazır hale getirir, ATP'ye bağlanır ve güçlü ATPaz aktivitesi vardır (6).
GRP 78	Endoplazmik retikulum ve lizozomda bulunur. Sekretuar hücrelerde yüksek seviyededir. Proteinlerin endoplazmik retikulum ve lizozomların içine alınmasını sağlar.
GRP 75	Proteinlerin mitokondri içine alınmasını, burada tutulumunu ve birleştirilmesini kolaylaştırır.
IŞP 65	Hipoksi süresince stres proteinlerinin uyarılması, hipoksik şartlar altında hücrenin bütünlüğünü sürdürülmesinde önemli rol oynar (7).
IŞP 60	Büyük oligomerler şeklinde mitokondriada bulunur. Makromoleküler protein yapımında ve hücrenin solunumunda rol oynar. ATP'ye bağlanır ve zayıf ATPaz aktivite gösterir.
IŞP 28	Perinükleer sitoplazma ve golgide büyük oligomerler şeklinde bulunur. Embriyogenez, gelişim, proliferasyon ve hücre transformasyonunda rol oynar.
IŞP 26	Şaperon aktivitesi gösterir ve in vitro olarak proteinleri irreversibl aggregasyondan korur. Saccharomyces cerevisiae'da bulunan ısı düzenleyici moleküler şaperondur (8).
IŞP 20	Küçük molekül ağırlıklı sıcak şokuyla ilişkili bir protein olup reseptöre bağlı kalsiyum girişini inhibe ederek antiplatelet aktivite gösterir (9).
IŞP 15	Ribozomla ilişkili bir IŞP olup hücredeki translasyon görevinden dolayı diğer proteinlerden oldukça farklı bir görevi vardır (10).
Ubiquitin	Hem sitoplazma, hem de nükleusta bulunur. ATP yardımıyla protein yıkımını kolaylaştırır. Muhtemelen gen düzenlenmesinde rol oynar.

uyarılarla cevapta farklılıklar gösterir. Akut hipertansiyonlu vakalarda artmış olan IŞP 72 ekspresyonu esansiyel hipertansiyonun istenmeyen etkilerine karşı koruyucu rol oynamaktadır (12).

4. Alfa B kristalin ve IŞP 25 yapısal ve fonksiyonel olarak küçük stres proteinleri ailesinden olup, sıcak ve iskemi gibi çeşitli uyarıcılarla tetiklenir. Her iki molekül böbrek glomerullerinde farklı kompartmanlarda bulunurlar. Renal iskemide her ikisi de birikime uğrarlar. IŞP proksimal tubül hücrelerinde iskemiye bağlı aktin filamentinin bozukluğunun düzeltilmesinde önemli rol oynar (13). IŞP 25 ve p38 MAPK yolunun myositlerin farklılaşmasında önemli rol oynadıkları düşünülmektedir (14).

5. IŞP'leri lenfosit trafiğinde endotel hücre reseptörü olarak görev yaparlar.

Stres Cevabının Özellikleri

Stres proteinlerinin fizyolojik fonksiyonları, hücre ısı şokuna maruz kaldığında daha önemli hale gelir. Stres proteinleri, ısı şoku altında oligomerik komplekslerin ayrılmasını ve polipeptidlerin açılmasını önler. Tekrar katlanma imkansız hale gelmişse, denature olmuş proteinlerin atılmasını hızlandırır. Diğer taraftan hücre içinde denature proteinlerin varlığı stres proteinlerinin yapımını uyarır. Siştözoma, sıtma, tripanazoma ve laşmanya gibi patojenler 25°C'lik poikilotermik vektörden, 37°C'deki konakçıya geçerken ani ısı değişikliğine maruz kalırlar. Bu ani ısı değişikliği, stres proteinlerinin sentezine yol açarak patojen organizmaların ortama uyumunda önemli rol oynar (15). Mikrobiyal patojenler, konakçı fagositlerinin yarattığı stresten kendilerini korumak için, stres proteinlerinin sentezini hızlandırırlar. Hücre içi pa-

tojen olan salmonella, önceden hidrojen peroksit ile muamele edilirse stres proteinlerinin sentezi artar ve bu durum onu daha yüksek ve öldürücü dozdaki hidrojen peroksit etkisinden korur. Genel olarak, yüksek dozda stres proteinleri üreten mutantların, ısı ve oksidan ajanlara ileri derecede dirençli olduğu, buna karşılık stres proteinlerine ait genlerinde bozukluklar olan mutantların ise aktif makrofajların öldürücü etkisine ileri derecede hassasiyet gösterdikleri tespit edilmiştir. Hem klamidyal, hem de insan İŞP 60'ın insan ateroskleroz plaklarında kolokelize olduğu gösterilmiş olup, bunun ateroskleroz sürecinde inflamasyona katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda, hem klamidyal hem de insan İŞP 60'ın E-selektin, ICAM 1 ve VCAM 1 ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (16). Bu sitokinler endotel hücrelerinde IL-6 üretimini de önemli oranda arttırmaktadırlar.

Stres proteinleri, konakçı cevabında da önemli rol oynarlar. Fagositler, başta reaktif oksijen metabolitleri olmak üzere, kendi ürettikleri zararlı maddelerden korunmak için stres proteinlerinin sentezinden faydalanırlar. Çeşitli viral enfeksiyonları takiben memeli hücrelerinde stres proteinlerinin sentezi artar. İŞP 70 ailesinin, hücre onkojenlerle de ilişkisi olduğu kabul edilmektedir (17). İŞP 70 ekspresyonu ağız hastalıklarıyla ilgili durumlarda sadece biyolojik stresin bir belirteci olarak değil, aynı zamanda ağız kanserlerinin patogenezinde de önemli rol oynar. Şizofrenli hastalarda yüksek İŞP 60 düzeylerinin, yüksek IL-2R ve sICAM-1 düzeyleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. İŞP'nin miyokard infarktüsü vakalarında koruyucu rol oynadığı gösterilmiştir. Son zamanlarda iskemi-reperfüzyona bağlı olarak "ısı şok faktör 1" in inaktive edilmesinin İŞP 70 ve İŞP 90 birikimini uyardığı gösterilmiştir. Serbest oksijen radikallerinin iskemi-reperfüze kalpte "ısı şok faktör 1" in inaktivasyonu ve İŞP 70 ve İŞP 90 birikimini de uyardığı gösterilmiştir. Bu aktivasyon allopurinol ve katalaz verilmesiyle önlenir (18). İŞP 27 küçük bir şok proteini olup sitotoksik strese karşı koruyucu etki gösterir. Bu molekül normal özofagus bol miktarda bulunurken, Barrett metaplazisi ve özofagus adenokanserli hastalarda belirgin olarak düşük bulunur. İŞP 33 ise son zamanlarda tanımlanan ısı proteini olup çok güçlü bir moleküler şaperon etkisi vardır. Bu molekül sitoplazmik yerleşim göstererek oksidan maddelere

karşı hücreleri korur (19). Hücre içi bakteri ve protozonlarla enfekte hücrelerdeki stres proteinlerinin durumu henüz çok iyi bilinmemektedir. İŞP 27, İŞP 56 ve İŞP 70 arka kök sinir gangliyonlarını ısı ve iskemik strese karşı koruyucu etki gösterir. Bunlardan sadece İŞP 27 sinir büyüme faktörünün etkisinin ortadan kalkmasıyla oluşan apoptozisten dorsal kök ganglion nöronlarını korurken, İŞP 70 in böyle bir koruyucu etkisi gösterilememiştir (20). İŞP 47 ise endoplazmik retikulum kaynaklı bir protein olup prokollajenin katlanması ve birleştirilmesinde moleküler şaperon etki gösterir. Bu molekül korneal epitel hücrelerinde Tip I kollajenin hücre içi transportu ve sentezinde de önemli rol oynar (21).

Stres Proteinleri ve İmmün Cevap

İnterlökin 1 ve mitojenlerin, lenfosit ve makrofajları aktivasyonu sırasında oluşan değişik polipeptid mRNA ları stres proteinlerinin artmasına yol açarlar. Bazı stres protein genleri, major histokompatibilite kompleksi (MHC) içinde yer almaktadır. Sıçanlarda, İŞP 70 ailesini kodlayan genlerin, kompleman komponentleri ile tümör nekrozis faktör (TNF) arasında ve MHC III genlerine yakın olarak yerleştiği belirlenmiştir (22). Hedef hücrelerin 42°C'ye maruz bırakılmaları TNF'e bağlı yıkıma direnci de artırır. Sikloheksimid gibi bir protein sentez blokörü ortama eklendiğinde direncin kaybolması, olayın protein sentezi ile ilişkili olduğunu gösterir. Subletal dozda uyarılarla stres proteinlerinin indüklenmesi, nasıl daha sonraki letal dozlardaki uyarılara karşı koruyuculuk sağlıyorsa, TNF ya da gama interferon uyarıları da doğal killer (NK) hücreleri ve lenfositlerle uyarılmış killer (LAK) hücrelerin yapacağı saldırıya karşı hedef hücre direncini artırabilir. Mitojenin aktive ettiği protein kinaz (MAPK) larve İŞP lerin hücrenin hem normal hem de strese bağlı patofizyolojik durumlarda fonksiyon gören proteinlerdir. Pankreasta İŞP 27, İŞP 60 ve İŞP 70 gibi bir çok protein tanımlanmışsa da akut pankreatitteki zararlı veya yararlı etki gösterip göstermedikleri belirlenememiştir (23).

Stres proteinlerinden, özellikle de İŞP 60 ve İŞP 70'in proteinlerinin açılması, taşınması, parçalanması ve katlanmasındaki rolleri, stres proteinlerinin antijen işleme ve sunmada da rolleri olabileceğini düşündürmektedir (14). Mikobakterilerle

rin hücre duvarlarının adjuvan etkisiyle uyarılan otoreaktif T hücrelerinin klonal genişlemesi, İŞP 65 ile önlenmektedir. Klamidy enfeksiyonu ile ilişkili İŞP 57'in geç tip aşırı duyarlık reaksiyonlarında önemli rol oynadığı ve bu ajana bağlı reaktif artrit vakalarında İŞP 57'ye karşı oluşan monoklonal antikorların sinoviyal dokuda arttığı saptanmıştır (16). İŞP 32 aynı zamanda hem oksijenaz olarak da bilinmekte olup, bu molekül sepsise bağlı multipl organ yetmezlik sendromu da en önemli bir göstergelerden biridir ve hücreleri oksidatif stresten korumada önemli rol oynar (24).

Stres Proteinlerinin Antijenitesi

Virüs ile transforme edilmiş ya da kimyasal olarak oluşturulmuş tümör hücrelerinde stres proteinlerinin arttığı gözlenmiştir. Bu hücrelerin tanınıp reddedilmesinde stres proteinlerinin, özellikle de İŞP 90'ın rolü olabileceği düşünülmektedir (25). Stres proteinlerinin pek çok patojende majör antijen olduğu artık bilinmektedir. İn vitro olarak ökaryot hücrelerde viral enfeksiyonu takiben çeşitli stres proteinlerin arttığı gösterilmiştir (Tablo 3). Daha önce de belirtildiği gibi, konağın patojene uyguladığı stres, patojende stres proteinlerinin yapısını arttırmakta, belki de miktarları arttığında, immün cevabı tetikleyen başlıca antijen konumuna geçmektedirler. Pek çok helmint, protozoa ve bakteri enfeksiyonunda, İŞP 70 ve İŞP 60 ailelerinin üyelerine karşı antikorlar gösterilmiştir. İŞP 60 ailesinin bir üyesi olan İŞP 65'in tüm bakterilerde bulunduğu düşünülmektedir (26).

İŞP 65, T hücrelerini de aktive edebilir. Özellikle tüberküloz ve lepra vakalarında İŞP 65'e spesifik T hücreleri tanımlanmıştır. Mikobakterium tüberküloz ile immünize edilmiş farelerde, bu mikroorganizmaya karşı gelişen T hücrelerinin %10-20'sinin İŞP 65'e spesifik olduğu gösterilmiştir. Ancak hiçbir hastalık belirtisi göstermeyen, tamamen normal insanlarda da İŞP 65'e reaktif T hücrelerinin bulunması, İŞP 65'e olan immün cevabın değişik, organizmalar tarafından paylaşılan ortak bir epitopa karşı olduğunu gösterir (27). Bu nedenle böyle ortak bölgelere karşı gelişmiş antikor ya da T hücrelerinin gösterilmesi belli bir patojenle enfeksiyonun varlığına işaret etmez. Bazı mikroorganizmalarla önceden geçirilmiş subklinik enfeksiyonlar, belli bir düzeyde ve non-

spesifik immüniteye yol açmış olabilir. Bu tür immüntenin mikrobiyal patojenlere karşı koruma sağlayıp sağlamadığı ise henüz kesin olarak bilinmemektedir. Ancak enfeksiyonun erken safhasındaki direnç katkısında bulunduğu ve değişik mikroorganizmaların stres proteinlerine karşı gelişmiş çapraz immüntenin, doğal immünite ile spesifik immün cevap arasındaki boşluğu doldurmada faydalı olduğu ileri sürülebilir. Değişik mikroorganizmalara ait stres proteinlerine tekrarlayıcı biçimde maruz kalınması, yüksek düzeyde devam eden immünite sağlayabilir. İnsanlarda sitomegalovirüs replikasyonu ile İŞP 70 lokalizasyonu arasında bir ilişki vardır ve İŞP 70 insanlarda CMV'nin çoğalmasında önemli rol oynar (28). İŞP 72'nin uyarılabilir formu özellikle inhalasyon hasarına maruz kalan yanıklı hastaların lökositlerinde bol miktarda mevcuttur. Sıcak şokuna maruz kalan polimorfonükleer lökositler İŞP 72 ekspresyon ederler ve proinflatuvar uyarıya cevap olarak Mac 1 integrini ekspresyonunu arttırırlar (29). İŞP 90 yüksek sıcaklıklarda oligomerize olur ve şaperon etki gösterir. ATP ve geldanamisin bu moleküle bağlanarak olayı inhibe ederken, molibdate, vanadate ve nonidet P-40 ise uyarıcı etki gösterir. Gerçekten İŞP 90'ın sıcağa bağlı oligomerizasyonu sıcak şoku süresince hücre korunmasında önemli rol oynar. Histonlar ve pozitif yüklü peptidler İŞP 90 ile ilişkili kinaz aktivitesini ayarlarlar. İŞP 90 da kromatin yapısının yoğunlaşmasına neden olur (30). Nitrik oksit, IDDM hayvan modellerinde adacık inflamasyonu süresince beta hücre yıkımına katkıda bulunur. İn vitro olarak uyarılabilir NOS'ın inhibisyonu inflamatuvar hücre ve sitokinlerin etkisiyle oluşan hasardan adacık hücrelerini korur. NO sadece güçlü bir sitotoksik ajan değil aynı zamanda Th1/Th2 reaktivitesi ile de immün reaksiyonlarda önemli rol oynar. Bu durum IL-12 antagonistlerinin uyarılmasıyla da oluşmaktadır. Hücreler özellikle İŞP 90'ın uyarılmasıyla bu duruma direnç gösterebilirler (31).

Patojen mikroorganizmalarca yapılan stres proteinleri, çeşitli enfeksiyonların ortak aktivitesini oluşturarak immün cevap için ortak bir hedef teşkil edebilir. Böylece bir patojen tarafından yapılan stres proteinine karşı gelişen immünite, ilgisiz bir başka patojene karşı koruyuculuk sağlayabilir. Bu durum, bazı patojenlerle olan enfeksiyonlarda enfekte kişilerin neden sadece bir kısmının aşkar

klirik hastalık gösterdiğini açıklayabilir. O halde bakteriyel stres proteinleri sınırlı derecede olmakla birlikte, geniş bir dizi patojene karşı etkin olabilecek aşuların oluşturulmasında önemli olabilirler. Son zamanlarda farelerde mikobakteriyel İŞP 65 antijeninin BCG aşısına eşit oranda koruma sağladığı gösterilmiştir (32). Ancak patojenlerin oluşturduğu stres proteinleri ile konağın ürettiği stres proteinleri arasındaki moleküler benzerlik nedeniyle konakçı patojen proteinlerin yabancı olduğunu fark etmeyebilir veya bir patojene ait stres proteinine devamlı olarak maruz kalış hücrenin kendi savunma mekanizmasını kırarak otoimmün hastalıklara neden olabilir. Bu şekilde, konakçının kendi stres proteinlerine ve çapraz reaksiyon veren diğer yapılarına karşı otoimmün cevaplar ortaya çıkabilir. Karnitin ile ısı şok proteinlerinin uyarılması hücre içindeki koruyucu mekanizmaların etkisini arttırır (33).

Otoimmün Hastalıklarda Stres Proteinleri

Bazı otoimmün hastalıklarda, stres proteinlerine karşı yüksek düzeyde oto antikorlar saptanmışsa da önemleri henüz tam olarak açıklığa kavuşmamıştır (Tablo 3). Stres proteinlerinin genel olarak hücre içinde bulunduğu düşünülmekteyse de, stres altında kalan bazı hücrelerin yüzeylerinde de stres proteinlerinin olabileceğine dair kanıtlar vardır. Bu hücreler, anti-stres protein antikorları için hedef teşkil ederek diğer otoimmün reaksiyonları tetikleyebilirler (34). Stres proteinlerinin hem eksojen patojenlerde, hem de endojen memeli organizmasında bulunması ve inflamasyon gibi stres hallerinde artmaları stres proteinlerinin otoimmüntenin tetiklenmesinde rolü olabileceğini düşündürmektedir (35).

İnsan İŞP 60 ve mikobakterium İŞP 70 arasında yaklaşık %60 benzerlik vardır. En azından 10 aminoasitlik bir bölge tamamen aynıdır. Bu durum İŞP 65'i otoimmün T hücreleri için iyi bir hedef haline sokmaktadır. İnsandaki mikobakteriyel stres proteinlerine karşı gelişen reaksiyonlar, insan stres protein homologlarına yöneliyor olabilir. Ancak her hangi bir enfeksiyöz ya da otoimmün hastalığı olmayan normal bireylerde de kendi İŞP 65 epitoplarına karşı T hücre varlığı gösterilmiştir. Stres (ısı, viral enfeksiyon, gama interferon) altında kalan konakçı hücrelerinin de İŞP 65'e karşı T hücre

Tablo 3. Çeşitli otoimmün hastalıklarda saptanan anti İŞP antikorları

*Romatoid artrit	Periferik kan ve sinoviyada İŞP 65'i ve İŞP 70'i bağlayan IgG ve IgA antikor
*SLE	İŞP 90'a karşı IgG antikor İŞP 70'e karşı IgG, IgM antikor Ubiquitin'e karşı antikor
*Ankilozan spondilit	İŞP 90 ve İŞP 60'a karşı antikor
*Primer Sjögren sendromu	Golgi kompleksinde İŞP 90'a karşı IgG antikor

cevabında hedef rolü oynayabileceği ve kendi stres proteinlerinin işlenip MHC sınıf I molekülleriyle birlikte T hücrelerine sunulabileceği düşünülmektedir (36). Bu bulguların ışığı altında, stres proteinlerinin otoimmünitadaki muhtemel rolleri aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

1. Bakteri ve insan stres proteinlerince paylaşılan epitopları tanıyan T hücre ve antikorların, hiç olmazsa bir kısmı tolerans mekanizmalarından kaçmakta ve dolayısıyla pek çok bireyde ortaya çıkabilmektedir.
2. Bu T hücreleri ve antikorlar, enfeksiyonlar sırasında mikrobiyal stres proteinleri ile karşılaşınca aktive olabilirler.
3. Bazı stres altında kalmış konak hücreleri de kendi stres protein epitoplarını tek başına ya da MHC kompleksleriyle ilişkili olarak hücre yüzeyine çıkarabilirler.
4. Stress altındaki hücreler ile mikroorganizmaların ortak epitoplarının T hücreleri veya antikorlarca tanınmaları otoimmün cevaba yol açabilir.

Isı şok protein 65 ile ilişkili T hücrelerinin mutlaka insan ve bakteri arasında ortak olan epitoplara karşı gelişmesi gerekmez ve sadece mikrop-lara özgü olan stres proteinlerine karşı gelişmiş T hücreleri de otoimmünitada rol oynayabilir (37). Stres proteinleri ile otoimmün hastalıklar arasındaki ilişki, başlıca otoimmün hayvan modelleri ve romatoid artritte incelenmiştir. Romatoid artritli hastalarda mikobakteriyel İŞP 65 ve 70 ailelerine karşı antikor düzeylerinin artmış olduğu gösterilmiştir. Romatoid artritli hastalarda, sinovyal sıvı T hücrelerinin, in vitro olarak İŞP 65 taşıyan

mikobakteriyel antijen varlığında proliferasyon olduğu ve bu olayın hastalığın erken safhalarında daha belirgin olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir. Monoklonal anti-65 kDa mikobakteriyel İŞP antikorları kullanılarak, adjuvan artritli ve romatoid artritli hastaların sinovyal membranlarında, özellikle de sinovyal hücrelerin sitoplazmalarında 65 kDa mikobakteriyel İŞP antijenlerinin varlığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar, artritin immünopatogenezinde 65 kD İŞP ile çapraz reaksiyon veren bir molekülün rolü olabileceğini düşündürmektedir. Anti mikobakteriyel İŞP 60 ve İŞP 70'e karşı oluşan IgG ve IgA antikor düzeyleri romatoid artrit ve sistemik lupus eritematozus vakalarında yükselmiştir. Bu hastaların sinovyal sıvıları mikobakteriyel İŞP 60 ve insan İŞP 58 arasında çapraz reaksiyon gösteren anti İŞP antikorları içerir (38).

Otoimmün hayvan modellerinden elde edilen bilgiler İŞP 60'ın bazı şartlar altında otoimmün fenomenlere zemin hazırlayabileceğini desteklemektedir. Ancak, romatoid artritin İŞP 60 otoimmünitesinin basit bir sonucu olduğunu söylemek mümkün olmadığı gibi, otoreaktif T hücrelerinin tek hedefi de stres proteinleri değildir. T hücrelerinin, normal immün cevabın bir parçası olarak nasıl işlev gördükleri ve insan otoimmün hastalıklarında, gerçekten rol oynanıp oynamadıkları araştırılmaktadır.

Romatoid Artritte Stres Proteinlerinin Rolü

Farelerde, mikobakteryal İŞP 60'a karşı artmış cevap veren T hücre klonları kullanılarak artrit geliştirilebilmektedir. Benzer bulgular, streptokokların hücre duvarlarının neden olduğu artritte de saptanmıştır. Mikobakteryal İŞP 60 peptidinin 150-180 pozisyonunda bulunan aminoasitler T hücreleriyle reaksiyon verirler. Romatoid artritli hastaların kıkırdak-pannus bileşkesindeki ve deri-altı nodüllerindeki sinovyal hücreler sitoplazmalarında yüksek oranlarda İŞP 60 epitoplari ekspresyon ederler. Ayrıca, bu hastaların sinovyal membran ve sıvılarında İŞP 60, İŞP 70, İŞP 90 ekspresyonu olduğu da gösterilmiştir. İŞP 60, interferon gama tedavisi sırasında makrofaj yüzeyinde ve kültüre Burkitt lenfoma hücrelerinde gösterilmiştir. 0-2 yaş arası bebeklere üçlü aşı (difteri, tetanoz, boğmaca) yapıldığında, bu bebeklerin %90'ında

mikobakteryal İŞP 60'a karşı reaktivitenin uyarıldığı gösterilmiştir. Böylece, aşı ile kişinin kendi stres proteinlerine karşı spesifik hafızaya sahip T hücrelerinin artırılması, başka patojenlerin vücuda girmesi halinde oluşacak cevabın daha güçlü olmasını sağlar. Ayrıca IgG antikorları, E. coli İŞP 60'la çapraz reaksiyon oluştururken, insan İŞP 60'la çapraz reaksiyon oluşturmamaktadır. Antimikobakteryal İŞP 60 IgG antikorları romatoid artritte yükselir. Bununla beraber, benzer iki çalışmada romatoid artritli vakalarda ve kontrol vakalarında anti İŞP 60 IgG antikorlarının oldukça geniş bir dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Romatoid artritli ve romatoid artritli vakalarda ise antikor seviyeleri açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Romatoid artritli monozigotik ikizlerde de antikor seviyelerinin yüksek olduğu ve bu seviyenin yaşla beraber arttığı görülmüştür. Bu da romatoid artritte anti İŞP 60 antikorlarının hastalıktan koruyucu rolü olduğunu gösterir. İnsan sinovyal T hücreleri sıklıkla mikobakterilerin 65 kDa luk İŞP'nini tanıyabilir ve bu antijenlere karşı oluşan antikorlar sıklıkla kanda yükselir. Persistan enfeksiyon bakteriyel ısı şok proteinlerinin iki yolla T lenfositlerini uyarmasına neden olur. Bakteriyel İŞP'lerinin sinovyal dokuda birikmesi bunların kollajen ve proteoglikanlar ile çapraz reaksiyon göstermelerine neden olabilir. Diğer taraftan insan ve bakteriyel İŞP'leri arasındaki moleküler benzerliğin bulunması da bu olayda önemli rol oynar.

Behçet Hastalığında Stres Proteinlerinin Rolü

Herpes simpleks virüs tip 1 ve çeşitli streptokok türleri Behçet hastalığının patogenezinde rol oynamaktadır. Gerçekten Behçet hastalığında IgA tipindeki anti- mikobakteryal İŞP 60 antikorları yüksek bulunmuştur. Ayrıca anti-mikobakteryal İŞP 60 monoklonal antikorları streptokok sanguis'in bazı zincirleriyle de çapraz reaksiyon vermektedir. Son zamanlarda, Behçet hastalarında mikobakteryal İŞP 60'a cevap olarak gelişen dolaşımdaki gama/delta T hücre seviyelerinin arttığı saptanmıştır. Gama/delta T lenfositlerine karşı artan bu cevap sentetik insan İŞP 60'a karşı daha güçlü olur. Sentetik insan İŞP 60 peptidleri farelerde üveite neden olabilmektedir. Behçet hastalarının oral mukozalarındaki yüksek düzeydeki mikrobiyal kolonizasyonun otolog stres protein-

lerin toleransının kırılmasında tetik çekici fonksiyon gördüğü düşünülmektedir (39).

SLE'de Stres Proteinleri

SLE'de otolog stres proteinlerine karşı hü-moral cevap artmıştır. SLE'li hastalarda periferik kandaki mononükleer hücrelerde İŞP 70 ve İŞP 90 aşırı miktarda yapılıır. Bu hastalarda normal şahıslara göre periferik kan mononükleer hücrelerindeki İŞP 90 seviyelerinde yaklaşık %20 artış saptanmıştır. İŞP 90'nın artmadığı SLE'li vakaların %12'sinde İŞP 72 seviyelerinin yüksek olduğu bulunurken, aksine olarak İŞP 73 ve İŞP 60 seviyelerinde her hangi bir artış saptanmamıştır. Dermatomyozit ve polimiyozit hariç tutulursa, İŞP 90 ve İŞP 72'deki artışın SLE'ye spesifik olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- De Maio A. Heat shock proteins: facts, thoughts, and dreams. *Shock* 1999; 11(1):1-12.
- Clark JI, Muchowski PJ. Small heat shock proteins and their potential role human disease. *Curr Opin Biol* 2000; 10(1):52-9.
- Moseley PL. Heat shock proteins and the inflammatory response. *Ann Acad Sci* 1998; 29;856:206-131.
- Laad AD, et al. Human gamma delta T cells recognize heat shock protein-60 *Int J Cancer*. 1999; 1;80(5):709-14.
- Jakob U, Muse W, Eser M, Bardwell JC. Chaperone activity with a redox switch. *Cell* 1999; 96(3):341-52.
- Henle KJ, et al. Stress proteins and glycoproteins. *Int J Mol Med* 1998 Jan; 1(1):25-32.
- Ganju L, Chanda S, Karan D. Induction of stress protein in response to hypoxia. *J Exp Biol* 1999; 37(4):344-9.
- Haslbeck M, Walke S, Stromer T, et al. Hsp 26: a temperature regulated chaperone. *EMBO J* 1999; 18(23):6744-51.
- Niva M, Kozava O, Matsuna H, et al. Small molecular weight heat shock related protein, HSP20, exhibits an anti-platelet activity. *Life Sci* 2000; 66(1):7-12.
- Korber P, Stahl JM, Nierhaus KH. Hsp 15: a ribosome associated heat shock protein. *EMBO J* 2000; 19(4):741-8.
- Russell KS, Haynes MP, Glaser T, et al. Estrogen stimulates Hsp 90 binding to eNOS in human vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 2000; 275(7):5026-30.
- Miller MJ, Boyd JE, Gedamu L. Induction of HSP 72 protects against organ damage in essential hypertension. *Can J Cardiol* 2000; 16(1):44-8.
- Smoyer WE, Ransom R, Harris RC, et al. Ischemic acute renal failure induces differential expression of small HSP. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11(2):211-21.
- Davidson SM, Morange M. Hsp25 and the p38 MAPK pathway are involved in differentiation of cardiomyocytes. *Dev Biol* 2000; 218(2):146-60.
- Zegel U, et al. Role of heat shock proteins in protection from and pathogenesis of infectious diseases. *J Cell Biochem* 1999; 72(4):559-69.
- Dressel R, Gunther E. Heat-induced expression of MHC-linked HSP70 genes in lymphocytes varies at the single cell level. *J Cell Biochem* 1999; 15;72(4):558-69.
- Nishizawa J, Nakai A, Matsuda K, Komeda M, Ban T, Negata K. Reactive Oxygen Species Play an Important Role in the activation of Heat Shock Factor 1 in Ischemic-Reperfused Heart. *Circulation* 1999; 23;99(7):934-941.
- Kaufman RJ. Molecular chaperones and the heat shock response. *Biochim Biophys Acta*. 1999 29; 1423(1):R13-27.
- Vortes C. Protection of Neuronal Cells from Apoptosis by İŞP27 Delivered with a Herpes Simplex virus vector. *J Biol Chem* 1999; 19;274(8):5061-9.
- Gu X, Ko MK, Kay EP. Intracellular interaction of HSP47 and type I collagen in corneal endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40(2):289-95.
- Auger I. HLA-DR1 motifs and heat shock proteins in rheumatoid arthritis. *Int Rev Immunol* 1998; 17(5):263-71.
- Nollen EA, et al. In vivo chaperone activity of heat shock protein 70 and thermotolerance. *Mol Cell Biol*. 1999; 19(3):2069-79.
- Schaffer C, Williams JA. Stress kinase and HSPs in the pancreas. *J Gastroenterol* 2000; 35(1):1-9.
- Takahashi T, Suzuki T, Yamasaki A, et al. Heat shock response in a rat model of septic MODS. *Nippon Zasshi* 1999; 114(5):295-302.
- Chadli A, Ladjimi MM, Baulieu EE, Catelli MG. Heat-induced oligomerization of the molecular chaperone HSP90. Inhibition By atp and geldanamycin and activation by transition metal oxyanions. *J Biol Chem* 1999.12; 274(7): 4133-9.
- Nollen EA, Brunsting JF, Roelofsen H, Weber LA, Kampinga HH. In vivo chaperone activity of heat shock protein 70 and thermotolerance. *Mol Cell Biol* 1999 Mar; 19(3):2069-79.
- Van del Ijssel P. Small heat shock proteins in the limelight. *Curr Biol* 1999 11; 9(3):R103-5.
- Ohgiani E, Kobayashi K, Takeshita K, Imanishi J. Biphasic translocation of a 70 kDa heat shock protein in human cytomegalovirus-infected cells. *J Gen Virol* 1999; 80 (Pt 1):63-8.
- Rodeberg DA, Meyer JG, Babcock GF. Heat shock response: presence and effects in burn patient neutrophil. *J Leuk Biol* 1999; 66(5):773-80.
- Schnaider T, Oikarinen J, Ishiwatari H, et al. Interactions of HSP90 with histones and related peptides. *Life Sci* 1999; 65(22):2417-26.
- Rothe H, Kolb H. Strategies of protection from nitric oxide toxicity in islet inflammation. *J Mol Med* 1999;77(1):40-4.

32. Silva C. The potential use of HSP to vaccinate against mycobacterial infections. *Microbes Infect* 1999; 1(6):429-35.
33. Strauss M, Anselmi G, Hermoso T, Tejero F. Carnitine promotes heat shock protein synthesis in adriamycin-induced cardiomyopathy in a neonatal rat experimental model. *J Mol Cell Cardiol* 1998; 30(11):2319-25.
34. Gill RR, et al. Heat shock provides delayed protection against oxidative injury in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Mol Cell Cardiol*. 1998; 30(12):2739-49.
35. Kuroda K, et al. Increased expression of heat-shock protein 47 is associated with overproduction of type I procollagen in systemic sclerosis. *J Invest Dermatol* 1998 Dec; 111(6):1023-8.
36. Dynlacht JR, et al. Lamin B is a prompt heat shock protein. *J Cell Physiol* 1999; 178(1):28-34.
37. Vayssier M, et al. Heat shock proteins chaperoning life and death. *Cell* 1998; 3(4):221-7.
38. Schwarz MJ, Riedel M, Gruber R, Muller N, Ackenheil M. Autoantibodies against 60-kDa heat shock protein in schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1998; 248(6):282-8.
39. Kaur J, Srivastava A, Ralhan R. Expression of 70-kD heat shock protein in oral lesions: marker of biological stress or pathogenicity. *Oral Oncol* 1998; 34(6):496-501.