

Apoptoz

APOPTOSIS

Ergin AYAŞLIOĞLU*

*Uz.Dr., SSK Ankara Eğitim Hastanesi, Mikrobiyoloji-İmmünoloji Bölümü, ANKARA

Özet

Multisellüler organizmalarda homeostaz, hücre çoğalması ve hücre ölümü arasındaki dengenin devamı ile sağlanır. Hücre proliferasyonunun kontrolü hakkında oldukça ayrıntılı bilgiye sahip olmamıza rağmen hücre ölümü ile ilgili bilgilerimiz azdır. Apoptoz bir organizmada yaygın olarak görülen ve tipik bir morfoloji gösteren, programlı, fizyolojik bir hücre ölüm şeklidir. Bu programlı hücre ölümü ile inflamasyona neden olmadan, istenmeyen, hasarlanmış hücreler yok edilmektedir. Apoptozun düzenlenmesindeki oluşacak bozukluklar, konjenital defektler, maligniteler, otoimmün hastalıklar, immün yetmezlikler ve dejeneratif hastalıklar gibi değişik hastalıkların gelişiminde etkili olabilmektedir. Apoptoz çok sayıda düzenleyici mekanizmanın işe karıştığı kompleks bir süreçtir. Günümüzde apoptozu düzenleyen mekanizmalar ve moleküller hızla açıklığa kavuşmakta, yaşlanma süreci ile birlikte gelişen hücre ölümünün düzenlenmesi ve hastalıklarla ilişkisi ortaya konmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Apoptoz

T Klin Tıp Bilimleri 2001, 21:57-62

Summary

In multicellular organisms, homeostasis is maintained through a balance between cell proliferation and cell death. Although much is known about the control of cell proliferation, less is known about the control of cell death. Apoptosis is a widespread and structurally distinct programmed cell death pathway by which damaged or unwanted cells are eliminated without causing inflammation. Aberrations in the mechanism of apoptosis are involved in the occurrence of congenital defects, malignancies, auto-immune disease, immune deficiency syndromes and degenerative conditions. Apoptosis is a complex process in which many regulatory mechanisms are involved. Today, a better understanding of apoptosis process and its mechanisms yields insights into the regulation of cell death during normal ageing and its role in health and illness.

Key Words: Apoptosis

T Klin J Med Sci 2001, 21:57-62

Multisellüler organizmalarda hücre sayısının kontrolü, hücre çoğalması ve hücre ölümü arasındaki dengenin devamı ile sağlanır. Apoptoz programlı ve fizyolojik bir ölüm şekli olması nedeniyle bu dengenin sürdürülmesinde önemli rol oynar. Fizyolojik hücre ölümü uzun yıllardır bilinen bir kavram olmasına rağmen apoptoz terimi ilk kez 1972'de Kerr ve arkadaşlarının ölen hücrede gelişen karakteristik yapısal değişiklikleri belirlemeleri ve bu süreci apoptoz olarak tanımla-

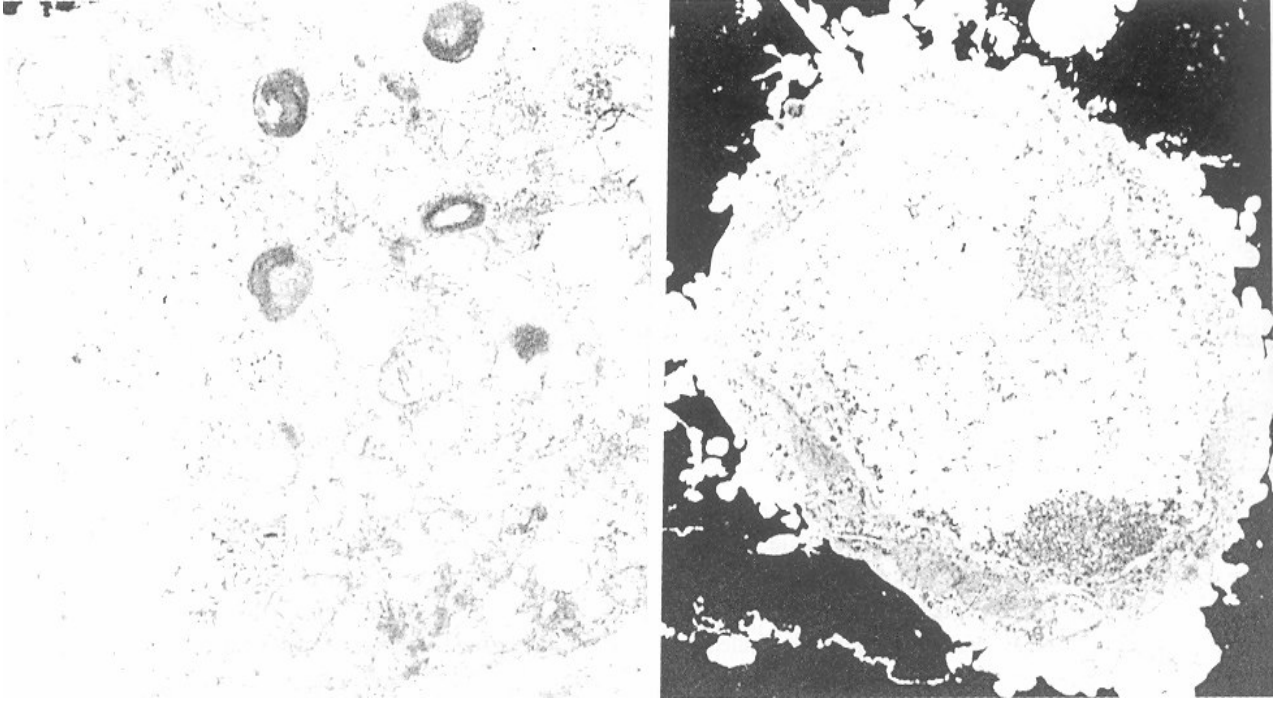
Geliş Tarihi: 16.02.2000

Yazışma Adresi: Dr.Ergin AYAŞLIOĞLU
SSK Ankara Eğitim Hastanesi
Mikrobiyoloji-İmmünoloji Bölümü
ANKARA

T Klin J Med Sci 2001, 21

maları ile kullanılmaya başlanmıştır (1). Hücre proliferasyonunun kontrolü hakkında oldukça ayrıntılı bilgiye sahip olmamıza rağmen hücre ölümü ile ilgili bilgilerimiz azdır. Günümüzde hücre proliferasyonu kadar kompleks bir süreç olan hücre ölümü üzerinde önemle durulmakta, apoptozu düzenleyen mekanizmalar hızla açıklığa kavuşmakta, bu olayı uyaran veya inhibe eden birçok sinyal tanımlanmaktadır (2-4).

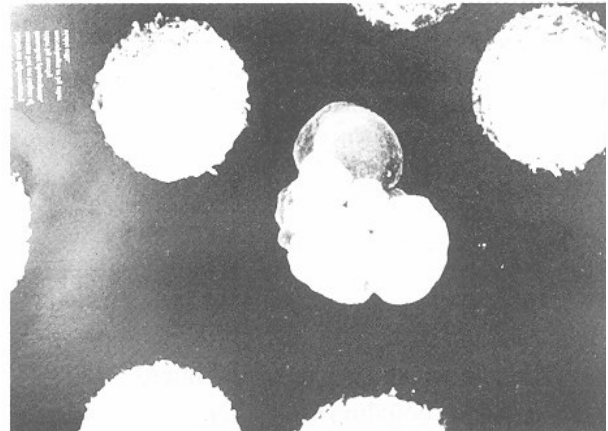
Hücre ölümü nekroz ve apoptoz olmak üzere başlıca iki şekilde meydana gelir. Nekroz ve apoptoz arasında biyolojik ve morfolojik belirgin değişiklikler vardır (5,6) (Şekil 1, 2). Nekroz kimyasal ve fiziksel zararlanmaları takiben ortaya çıkan patolojik bir ölüm şeklidir. Başta mitokon-



Şekil 1. Nekroz (solda) ve apoptoz (sağda) ile uyumlu morfolojik değişiklikler gösteren iki hücre. Nekrotik hücre şişmiş, sitoplazmasında vakuolizasyon ve mitokondri iç membranında hasarlanma mevcut. Apoptotik hücrede kromatin kondensasyonu ve blebbing (sitoplazmik çıkıntılar) dikkati çekiyor.

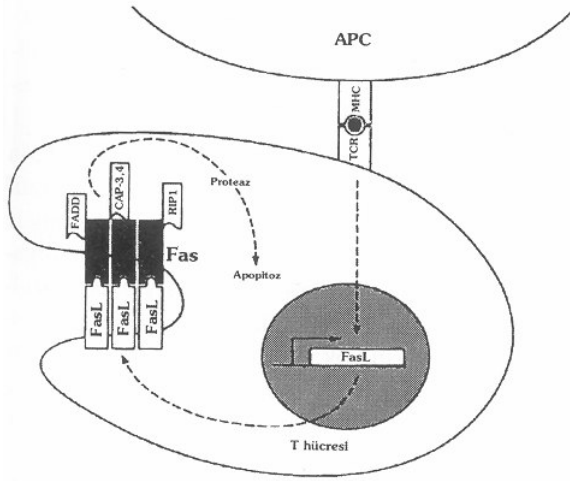
driyon olmak üzere sitoplazmik organeller hasarlanır, hücre membranı selektif permeabilitesini kaybeder ve şişerek rüptüre olur. Hücre içeriği çevre dokuya yayılarak, inflamatuvar bir cevaba neden olur. Apoptotik hücrede, nekrozun aksine en çarpıcı değişiklik çekirdekte meydana gelir. Hücre küçülür, yüzeyinde “bleb”ler (sitoplazmik çıkıntılar) meydana gelir. Sitoplazmada yoğunlaşma, hücre dansitesinde artma ve çekirdek membranına yakın bölgelerden başlayarak kromatinde yoğunlaşma görülür. Daha sonra tüm çekirdek kondense olur ve DNA'nın fragmentasyonu meydana gelir. Hücre her biri membranla kaplı birçok apoptotik partiküle ayrılır. Komşu hücreler ya da fagositler tarafından bu apoptotik partiküller fagosite edilerek dokudan hızla uzaklaştırıldığı için inflamatuvar reaksiyon görülmez. Bu nedenle apoptoz sakin bir ölüm şeklini ifade eder. İnflamasyonun olmaması önemli bir özelliktir ve komşu hücrelere zarar verilmeden hücre ölümü gerçekleşir.

Apoptoz dokuların yenilenmesi ve gelişiminde rol oynayan fizyolojik bir süreçtir. Embriyonal gelişme esnasında çok sayıda hücre apoptoz ile yok olmaktadır. Gelişme faktörleri, hormonlar ve



Şekil 2. Apoptoza giden bir hücre.

sitokinlerin sinyalleri olmadığında hücreler apoptoza giderler. Ancak apoptoz çok çeşitli iç ve dış uyarı ile tetiklenebilmektedir (7). Toksinler, iyonize radyasyon, reaktif oksijen radikalleri, çeşitli kimyasallar, yaşlanma veya iskemi sonucu gelişen subletal hasarlar hücredeki apoptotik süreci aktive edebilir. Çekirdekte, hücre membranında, mitokondriyonda veya hücre içi herhangi bir bölgeden gelebilecek bir uyarı apoptozu başlatabilir.



Şekil 3. Fas-Fas ligand etkileşimi ile T hücrenin ölümünü gösteren bir model.

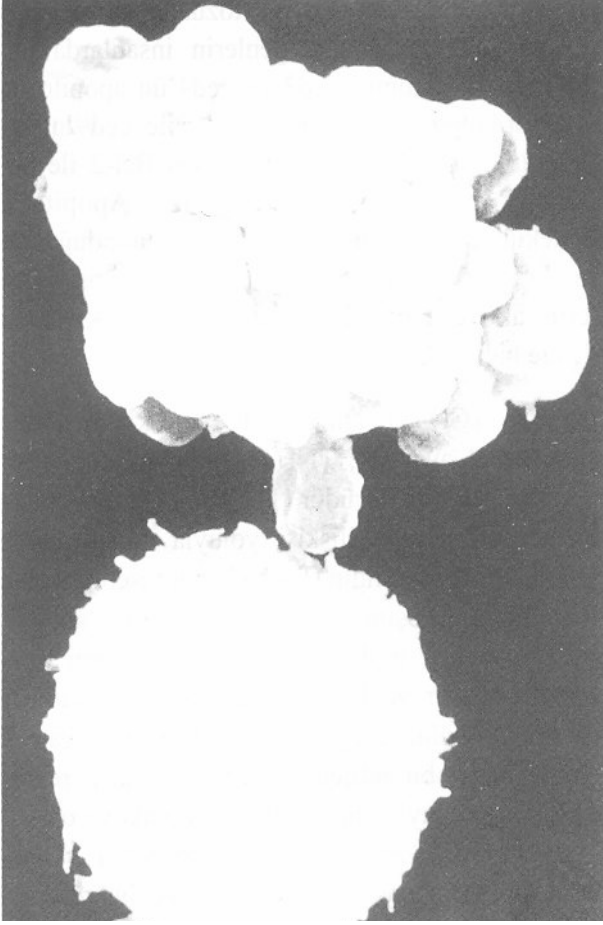
DNA'da oluşan bir hasar özellikle önemli bir uyarıdır. Duyarlı hücrede p53'ün aktivasyonu veya diğer başka mekanizmalar apoptozu başlatabilir. Bu zararlanmalar dışında apoptozu indükleyen bazı fizyolojik sitokinler vardır. Örneğin apoptoz ilişkili bir reseptör olan Fas'ın (Apo1, CD95 isimleri de verilmektedir) kendi ligandı ile etkileşimi sonucu apoptozun gelişimidir (8). Apoptozu başlatabilen tüm bu uyarılar, sonuç olarak kaspazların (sistein proteazlar) aktivasyonuna neden olmakta, bunların aktivasyonu ile kromatin kondansasyonu, DNA fragmentasyonu gibi apoptozu ait karakteristik morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler gelişmektedir. Kaspazlar apoptozun efektör kolunu oluşturmaktadır ve apoptozu giden bütün hücrelerde aynı şekilde gelişmektedir (9).

İmmün sistemde apoptozun düzenlenmesinde, bu süreci indükleyen veya bloke eden spesifik genler vardır (2). Apoptoz ile ilgili bu genler, ligandlar ve onların reseptörlerini, sinyal iletici molekülleri kodlarlar. Bunlar arasında lenfoid sistemde en çok üzerinde çalışılanlar Bcl-2 ve Fas (CD95) olmuştur. Apoptozun genetik regülasyonu küçük bir nematod olan *Caenorhabditis elegans*'da ayrıntılı bir şekilde incelenmiştir (10). Bu nematodda gelişim süresince her hücrenin kaderi önceden belirlenmiştir, ölümün başlatılması için gerekli genler ced3 ve ced4 iken, ced9 ile bu genlerin etkisi ve apoptozu inhibe edilir, yaşam devam eder. Ölen

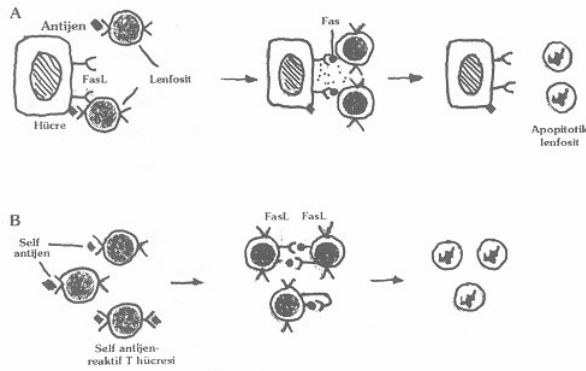
hücrelerin tanınması ve fagositozunda ise yedi ayrı gen rol almaktadır. Bu genlerin insanlarda homologları saptanmış, ced3 ve ced4'ün apoptozun efektör kolunu oluşturan kaspazlar ile, ced9'un ise insanda anti-apoptotik protein olan Bcl-2 ile homoloji gösterdiği saptanmıştır. Apoptotik moleküller hücrelerde yaygın olarak bulunduğu durumlarda aynı zamanda apoptoz inhibitörü genlerin aktive halde bulunması apoptotik süreci denge halinde tutmaktadır.

Fas (CD95) apoptozun indüklenmesinde anahtar rol oynayan, TNF reseptör ailesinden bir hücre yüzey reseptörüdür (11). Fas ilişkili apoptoz bir reseptör-ligand ilişkisi yoluyla oluşan hücre ölümüdür. Fas ligandın (FasL) kendi reseptörü olan Fas ile etkileşimi sonucu apoptoz sinyali, yüzeyinde Fas molekülü bulunan hücrenin nükleusuna iletilir ve Fas ekspresyonu olan hücrede apoptoz ile ölüm meydana gelir. Yabancı veya self antijen olsun, bir antijenik uyarımda T hücre reseptör (TCR) yoluyla alınan uyarılar ile aktive olan T hücrede aynı zamanda Fas ekspresyonu artmakta, FasL ekspresyonu gelişmekte ve hücre hızla apoptozu gitmektedir. Fas-FasL etkileşimi ya aynı hücrede olmakta ve hücre kendi ölümünü hazırlamakta (hücrenin intiharı), ya da iki ayrı hücrede etkileşim gerçekleşmektedir. Hücre içinde Fas'ın hücre içi proteinler olan FADD, RIP, CAP3 ve 4 ile ilişkisi ve proteazların aktivasyonu ile apoptoz gerçekleşmektedir (Şekil 3). Böylece sitotoksikite kendi aktive hücrelerine karşı gelişmektedir (12).

Apoptoz immün sisteminin gelişmesi, regülasyonu ve fonksiyonları için anahtar rol oynamaktadır. Fas ilişkili apoptoz immün cevabın kontrolünde, self antijenleri tanıyan immün hücrelerin yok edilmesinde ve sitotoksik öldürmede önemli bir rol oynamaktadır (13,14). Sitotoksik T hücrelerinin virüsle enfekte hücre veya malign bir hücre gibi hedef hücreyi öldürmesinde de Fas-FasL etkileşimi etkili olduğu bilinmektedir (Şekil 4). Fas-FasL etkileşiminin sitotoksitedeki önemli rolüne bağlı olarak bu moleküllerin transplantasyon immünolojisi ile immün dokunulmazlıktaki rolleri, özellikle son yıllarda büyük önem kazanmıştır (15,16). Göz, beyin ve testis gibi dokulara nakledilen graftların rejeksiyona uğramaması ve kolay kabul edilmeleri nedeniyle immün dokunulmazlık-



Şekil 4. Sitotoksik T hüresinden ölüm sinyalinin alarak apoptoza giden bir kanser hücresi.

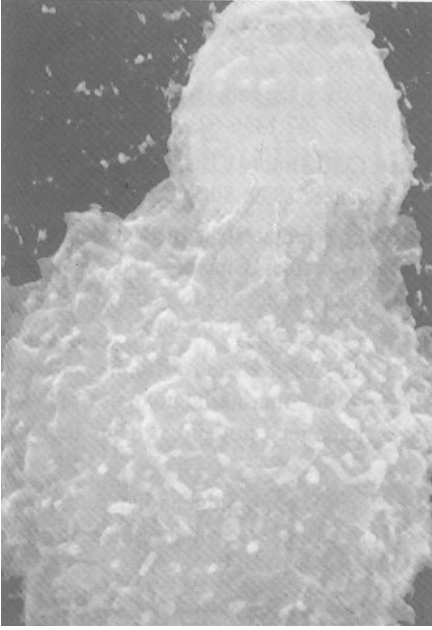


Şekil 5. İmmün dokunulmazlık ve self toleransın sağlanmasında Fas-FasL etkileşiminin rolü. A. İmmün dokunulmazlık B. Self tolerans.

lı durumları uzun yıllardır bilinmektedir. Bu bölgelerde immün dokunulmazlığın sağlanmasında apoptozun rolü özellikle son yıllardaki çalışmalar-

da önem kazanmıştır. Bu dokular karşılaştıkları aktive olmuş lenfositleri Fas-FasL etkileşimi ile öldürmekte, böylece lokal immün cevaptan korunmaktadırlar (Şekil 5).

Apoptozun düzenlenmesindeki defektlerin kanser, otoimmün hastalıklar, AIDS ve dejeneratif hastalıklar gibi değişik hastalıkların gelişiminde etkili olabileceği bilinmektedir (17,18). Bir organizmada yaşamın devamı için fonksiyonları bozulmuş, organizma için gerekliliği kalmamış, istenmeyen hücrelerin yok edilmesi gerekmektedir. İşte bu hücrelerin yok edilmesi üstelik inflamasyona neden olmadan yok edilmesi bu fizyolojik, programlı hücre ölümü ile sağlanmaktadır. Apoptozun azalması maligniteler, anti-kanser tedaviye direnç ve hatta otoimmün hastalıkların gelişmesine neden olurken tersine çok fazla apoptoz immün yetmezlikler veya dejeneratif hastalıklar ile sonuçlanır. Bir organizmada tümörleri oluşturabilecek, organ fonksiyonlarını etkileyebilecek, zararlanmış, anormal, yaşlı, genetik olarak bozulmuş hücrelerin yok edilmesini sağlayarak malign değişimi önlemede, otoreaktif hücrelerin yok edilmesini sağlayarak otoimmünite gelişmesini önlemede önemli bir yol olarak gözükmektedirler. Karsinogeneziste apoptotik süreçteki bazı elementlerin etkilendiğini gösteren kanıtlar vardır. Bilindiği gibi birçok kanserde tümör supresör gen p53'de mutasyonlar veya delesyonlar vardır. DNA hasarlanmasını takiben aktive olan p53'ün apoptozu tetiklediği, aynı zamanda apoptozu uyaran bir gen olduğu gösterilmiştir (19). Apoptozda defektlerin tümör oluşumuna neden olduğunu gösteren doğal bir örnek ise insanlarda saptanan folliküler lenfomada, anti-apoptotik protein olan Bcl-2'nin artmış ekspresyonunun saptanmasıdır (20). Birçok antikanser ajanın duyarlı hücrede apoptozu indüklediği bilinmektedir. Özellikle sitostatik ajanlara dirençli ve düşük büyüme hızına sahip malign tümörlerin kemoterapisinde, bir kanser hücresinin apoptoza yatkınlığı önem taşımaktadır. Aksine bazı tümör hücreleri ise FasL eksprese etmekte ve üzerinde Fas reseptör bulunan sitotoksik T hücrelerine ölüm emrini vererek bu hücrelerden kendilerini koruyabilmektedirler (Şekil 6). Santral sinir sisteminin kronik dejeneratif hastalıklarında da apoptotik defektlerin olduğu bilinmektedir. En bilinen örneği, endojen apoptoz inhibitörü bir proteinin eksikliğinin gösterildiği müsküler atrofidir (21). Bu bul-



Şekil 6. Bir öldürücü T hücrenin kanser hücresinde apoptozu başlatması, Fas ligand ekspresyonu ve hedef hücredeki Fas ile bağlanması ile olur. Son zamanlarda bazı malign melanoma hücrelerinin öldürücü T hücreleri üzerinde benzer etkilere sahip olabileceği gösterilmiştir.

gu Alzheimer ve Parkinson gibi diğer dejeneratif hastalıkların da artmış apoptoz sonucu geliştiği düşüncesini doğurmuştur. Bazı bakteriyel ve viral enfeksiyonların patogenezinde de apoptozun düzenlenmesinde bozukluk olduğu saptanmıştır. Shigella enfeksiyonunda, bu bakterinin makrofajlarda apoptozu arttıran, kaspaz kaskadını aktive eden faktörler salgıladığı saptanmıştır (22). Konak hücresinde kolonize olan bazı virüslerin anti-apoptotik stratejiler geliştirdiği, bazı anti-apoptotik proteinler oluşturduğu saptanmıştır (23). Hepatit B veya C virüs enfeksiyonlarında sitotoksik T hücrelerindeki FasL ekspresyonunun arttığı ve hepatositteki fas ile etkileşime girerek hücre ölümüne neden olduğu düşünülmektedir (24). Bu süreç normalde virüsle enfekte hücrenin kaldırılmasına yönelikken, eğer aşırı bir şekilde gelişirse fulminan hepatit gelişmektedir. HIV (Human immunodeficiency virus) ile enfekte kişilerin CD4+ ve CD8+ hücrelerinde Fas ekspresyonu artmış bulunmaktadır. AIDS'de CD4+ T hücre depresyonunda Fas/FasL sisteminin direkt etkisi olduğunu gösteren kanıtlar vardır (25). Apoptozun patogenezinde rol oynadığı hastalıkların sayısı giderek artmaktadır. Biz de çalışmamızda, apoptoz ile ilişkili bir

molekül olan Fas (CD95) antijeninin Behçet hastalığı patogenezindeki rolünü araştırdık. Behçet hastalığının immünopatogenezi tam olarak bilinmemekle beraber, T lenfositlerinde bir aktivasyon söz konusudur ve bu durumda Fas ekspresyonunun artması beklenebilir. Biz çalışmamızda, aktif Behçet hastalarında T lenfositler üzerindeki Fas ekspresyon düzeyinin artmadığını saptadık ve bu hücrelerin apoptozu ile ilgili bir defekt olabileceğini düşündük (26). Behçet hastalığında apoptozla ilgili defektleri belirlemek amacıyla yapılmış az sayıda çalışma vardır ve ortaya konulan bu bulgu daha ileri araştırmalar için yol gösterici olacaktır.

Apoptoz her hücre tipi için farklı sinyallerin etkili olduğu çok sayıda mekanizmanın işe karıştığı kompleks bir süreçtir. Apoptozun düzenlenmesinde rol alan çok sayıda molekül belirlenmiş ve etki mekanizmaları gösterilmiş olmasına rağmen, halen aydınlatılması gereken noktalar vardır. Apoptozun değişik hastalıkların patogenezindeki yeri anlaşılmalı başlandıkça, tedavide değişik hücre gruplarında apoptozu duyarlılığı arttıran veya azaltan terapötik ajanlar geliştirmek mümkün olacaktır. Apoptozu arttıran ilaçlar kanser tedavisinde dirençli hücrelerde kemoterapötik ilaçlarının etkisini arttıracaktır, apoptoz inhibitörü ilaçlar AIDS'li hastalar için yararlı olacaktır. Bir insan yaşamında hücreler uzun yıllar normal fonksiyonlarını sürdürürler ve bir gün gelir hızla yok olurlar. Bu hücrelerin nasıl ve ne zaman öleceği rastgele değildir. Yaşlanma ile birlikte fazla sayıda ve erken hücre ölümü organ disfonksiyonu ve hastalıklara neden olmaktadır. İşte apoptozun daha iyi anlaşılmasına başlanması ile belki de farmakolojik olarak bu fizyolojik hücre ölümü düzenlenebilecek ve yaşlanma süreci kontrol altına alınabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26:239-57.
2. Scaffidi C, Kirchhoff S, Kramer PH, Peter ME. Apoptosis signaling in lymphocytes. *Curr Opin Immunol* 1999; 11:277-85.
3. Ekert PG, Vaux DL. Apoptosis and the immune system. *Br Med Bull* 1997; 53:591-603.
4. Kramer PH, Behrmann I, Daniel P, Dhein J, Debatin MK. Regulation of apoptosis in the immune system. *Curr Opin Immunol* 1994; 6:279-89.

5. Cohen JJ. Overview: Mechanisms of apoptosis. *Immunol Today* 1993; 14:126-30.
6. Wyllie AH. Apoptosis: an overview. *Br Med Bull* 1997; 53:451-65.
7. Wyllie A. A tidy death. *Odyssey* 1998; 4:47-52.
8. Nagata S, Golstein P. The Fas death factor. *Science* 1995; 267:1449-55.
9. Thornberry NA. The caspase family of cysteine proteases. *Br Med Bull* 1997; 53:478-90.
10. Hodgkin J. Sex, cell death, and the genome of *C. elegans*. *Cell* 1999; 98:277-80.
11. Van Parijs L, Abbas AK. Role of Fas-mediated cell death in the regulation of immune responses. *Curr Opin Immunol* 1996; 8:355-61.
12. Osborne BA. Apoptosis and the maintenance of homeostasis in the immune system. *Curr Opin Immunol* 1996; 8:245-54.
13. Abbas AK. Die and let live: Eliminating dangerous lymphocytes. *Cell* 1996; 84:655-8.
14. Kagi D, Vignaux F, Lederman B. Fas and perforin pathways as major mechanisms of T cell-mediated cytotoxicity. *Science* 1994; 265:528-30.
15. Uçkan D. İmmün dokunulmazlık ve apoptozis. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 1998; 41:411-23.
16. Griffith TS, Brunner T, Fletcher SM. Fas ligand induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. *Science* 1995; 270:1189-92.
17. Carson A, Ribeiro JM. Apoptosis and disease. *Lancet* 1993; 341:1251-55.
18. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267:1456-62.
19. Wylie AH, Bellamy COC, Bubb VJ et al. Apoptosis and carcinogenesis. *Br J Cancer* 1999; 80(Suppl):34-7.
20. Ghia P, Boussiotis VA, Schultze JL et al. Unbalanced expression of bcl-2 family proteins in follicular lymphoma: contribution of CD40 signaling in promoting survival. *J Biol Chem* 1998 Dec; 4:273(49):32895-900.
21. Yaraghi Z, Korneluk RG, MacKenzie A. Cloning and characterization of the multiple murine homologues of NAIP (neuronal apoptosis inhibitory protein). *J Clin Immunol* 1999; 19:388-98.
22. Hilbi H, Moss JE, Hersh D et al. Shigella-induced apoptosis is dependent on caspase-1 which binds to IpaB. *Genomics* 1998 Jul 1; 51(1):107-13.
23. Deveraux QL, Stennicke HR, Salvesen GS, Reed JC. Endogenous inhibitors of caspases. *Blood* 1998; 91:244-51.
24. Hayashi N, Mita E. Involvement of Fas system-mediated apoptosis in pathogenesis of viral hepatitis. *J Viral Hepat* 1999 Sep; 6(5):357-65.
25. Peter ME, Ehret A, Berndt C, Krammer PH. AIDS and the death receptors. *Br Med Bull* 1997; 52:604-16.
26. Ayaslıoğlu E, Turgay M, Duzgun N, Duman M. Expression of Fas antigen (CD95) on peripheral blood lymphocytes in Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol* (baskıda).