

# Apoptoz: Programlı Hücre Ölümü

## APOPTOSIS: PROGRAMMED CELL DEATH

Ayşe Gaye TOMATIR\*

\*Pamukkale Üniversitesi Denizli Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, DENİZLİ

### Özet

Filozoflar yüzyıllar boyunca hayatın anlamını araştırdılar; oysa hücre biyologları daha çok ölümün anlamıyla ilgilendiler. 1970'lere kadar bilinen tek hücre ölümü nekrozdu ve bu yüzden hücre ölümü fizyolojik olmayan zararlı bir olay gibi görülüyordu. Ancak insanda ve diğer çok hücreli organizmaların dokularında hücre ölümü, ne her zaman anormal ne de her zaman zararlıdır. Apoptozla hücre ölümü enerjiye bağlı olarak, hücrel yaralanma ve inflamasyon olmaksızın, çok daha ustaca gerçekleştirilir. İlk kez Kerr ve arkadaşları tarafından 1972'de tanımlanan programlı hücre ölümünün ya da apoptozun, bütün çok hücreli organizmalarda, gelişmede ve homeostazın sürdürülmesinde vazgeçilmez bir rolü vardır. Apoptotik hücre ölüm programı, üç ana bileşen içerir: Bcl-2 ailesi proteinleri, kaspazlar ve apoptotik proteaz aktive edici faktör-1. Bu anahtar bileşenlerin biyokimyasal aktivasyonu, apoptozda gözlenen morfolojik değişikliklerden, mitokondriyal hasardan, çekirdek zarı kırılmalarından, DNA fragmentasyonundan, kromatin kondansasyonundan ve apoptotik cisimciklerin şekillenmesinden sorumludur. Ayrıca kanser, nörodejenerasyon, otoimmünite, kalp hastalıkları ve diğer bozukluklar gibi geniş bir alana yayılan hastalıkların patogenezini apoptozun kötü regülasyonu ile ilişkilidir. Apoptozun gen ürünleri, tanı ve tedavi için potansiyel hedeflerdir ve geniş bir alana yayılan hastalıklar için yeni tedavi ve davranış biçimleri geliştirme umudunu sunar. Bu makale; apoptozun, morfolojik özelliklerini, genetik düzenlenmesini, hastalıklardaki yerini ve nekrozun özelliklerini içeren bir derlemedir.

**Anahtar Kelimeler:** Apoptoz, Nekroz, Kaspaz, Hastalık, Tedavi

T Klin Tıp Bilimleri 2003, 23:499-508

### Summary

Philosophers have spent great effort for many centuries in searching the meaning of life, although cell biologists have become more familiar with the meaning of death. Until early 1970s, necrosis was the only explanation for cell death with the assumption of a nonphysiological and detrimental event. But the death of cells in human tissues and other multicellular organisms is always neither abnormal nor detrimental. Bioenergetics of cell death due to apoptosis is a more subtle event without massive cellular injury and inflammation. The role of programmed cell death or apoptosis in the development and maintenance of homeostasis within all multicellular organisms was firstly described by Kerr et al in 1972. Apoptotic cell death consists of three major components: the Bcl-2 family proteins, the caspases, and the apoptotic protease activating factor-1. Biochemical activation of these key components is responsible for the morphological changes observed in apoptosis including mitochondrial damage, nuclear membrane break down, DNA fragmentation, chromatin condensation, and the formation of apoptotic bodies. Dysregulation of apoptosis is also associated with the pathogenesis of a wide array of diseases: cancer, neurodegeneration, autoimmunity, heart disease, and other disorders. Apoptotic genes and gene products involved of apoptosis are potential targets for the diagnostic and therapeutic purposes, offering novel applications in the treatment of a wide array of maladies. In this paper, the nature of apoptosis including the necrosis, its involvement in different diseases, morphological characteristics and genetic regulation is reviewed.

**Key Words:** Apoptosis, Necrosis, Caspases, Disease, Therapy

T Klin J Med Sci 2003, 23:499-508

Fizyolojik ya da programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanan apoptoz biyoloji alanında olduğu kadar temel ve klinik tıp bilimlerinde de ilgi çeken bir konudur. Patolojik hücre ölümü olan ve ATP miktarının azalması, hücre homeostazının hızla bozulduğu, inflamasyon yanıtının geliştiği nekroz-

dan tamamen farklı olarak, apoptoz; inflamasyon olmaksızın hücrelerin kendi kendilerini yok ettikleri, genlerle düzenlenen, programlı, RNA, protein sentezi ve enerjiye gereksinim duyan, organizmada homeostazı koruyan bir olaydır. Apoptoz, Yunanca'da apo(=ayrı) ve ptosis(=düşen) kelimelerinin

birleştirilmesiyle oluşmuş sonbaharda yaprak dökümünü tanımlayan bir kelimedir (1,2,3,4). İlk kez 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie (5) tarafından "fizyolojik hücre ölümü" ifadesi tanımlandıktan sonra yine ilk olarak Wyllie ve Kerr tarafından glukokortikoidlere maruz kalan timüs hücreleri üzerinde yapılan deneysel bir çalışma ile gösterilmiştir (1). Apoptoz, 20 yıldan fazla embriyolojik gelişimin temel süreci olarak bilinmiş, araştırmacıların 1990'lı yılların başlarında, gelişimini tamamlamış hayvan hücrelerinde de apoptozu tanımlamasıyla konu daha ilgi çekici bir hale gelmiştir (5,6).

Programlı hücre ölümünün moleküler mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte hücrelerin genetik olarak belleklerinde var olan intihar programının çeşitli sinyallerle, patofizyolojik koşullarla ve oksidatif stres gibi olaylarla aktive olmasıyla başlamaktadır (7). Ayrıca apoptoz mekanizması, uyarana ve hücre tipine göre farklılıklar göstermektedir. Apoptozu etkileyen hücre içi uyarılar genel olarak: büyüme faktörleri, onkojenler, tümör süpresör genler olmak üzere üç ana grupta toplanabilir (1). Apoptozu etkileyen uyarıların bazıları şu şekilde sıralanabilir: büyüme faktörlerinin geri çekilmesi, sitokinler, hücre içi kalsiyum miktarındaki artış, tümör nekroz faktör (TNF), TGF-B (Transforming Growth Factor), Fas/FasL sisteminin aktive olması, DNA hasarı nedeniyle bir tümör süpresör gen olan p53'ün aktive olması, viral-bakteriyal enfeksiyonlar ve glukokortikoidler gibi (1,3,8,9). Bunlardan özellikle proto-onkojenlerin (c-myc gibi) çoğunun apoptozun regülasyonunda yer aldığı kanıtlanmıştır (10). Ayrıca hipertermi, radyasyon, sitotoksik antikanser ilaçları ve hipoksi gibi nekroz oluşturabilen etkenler de hafif dozlarda apoptoz meydana getirirler (1). Apoptozda, hücre ölümü çevreye rahatsızlık vermeksizin gelişse de, bazen apoptoz dolaylı olarak çevre dokuda nekrozu başlatabilir ya da tam tersi nekroz apoptoz gelişmesine yol açabilir (9).

Apoptoz süreci: DNA hasarına genlerin yanıtı, hücre membranı tarafından ölüm sinyallerinin alınması (Fas ligandı), hücreye doğrudan proteolitik enzim girişi (granzim) olmak üzere üç farklı şekilde işleyebilir (3). Bu süreçte belli başlı üç anahtar

bileşen vardır. Bunlar: Bcl-2 ailesi proteinleri, kaspazlar ve Apaf-1 (*Apoptotic protease activating factor-1*) proteinidir. Bu bileşenlerin biyokimyasal aktivasyonu, apoptozda gözlenen mitokondriyal hasar, çekirdek zarı kırılması, DNA fragmentasyonu, kromatin kondensasyonu ve apoptotik cisimlerin şekillenmesi gibi morfolojik değişikliklerden sorumludur (11). Günümüzde, apoptoz sürecinde rolü olan biyokimyasal ve genetik komponentlerin aydınlatılmasıyla birlikte apoptozun aktivasyonuna ya da inhibisyonuna yönelik çalışmalar; kanser, AIDS ve otoimmün bozukluklar gibi birçok hastalıkta yeni tedavi olanaklarını gündeme getirmektedir (1,9,12,13).

## Hücre Ölümündeki Morfolojik Değişiklikler

### 1. Apoptoz

Apoptoz, tek bir hücrede, büzüşme ve çevre hücrelerle olan temasın kaybolması ile karakterizedir. Hücre sel büzüşmenin nedeni, Na, K, Cl taşıyıcı sisteminin durması nedeniyle hücre içi ve dışı arasındaki sıvı hareketinin olmamasıdır (9). Apoptotik uyarım alan hücre, hacminin yarısına düşer, çevre ile olan bağlantılarını keser ve mikrovillusları kaybolur. Elektron mikroskopunda gözlenen değişikliklerde, öncelikle plazma membranının şekli bozulur ve kabarcıktanmalar oluşur; bu yapı "zeiozis" olarak tanımlanır. Zardaki tomurcuklanma ve parçalara ayrılma olayında transglutaminaz enzimi etkili olmaktadır. Hücre zarında iç yüzeyden dışarıya fosfatidilserin translokasyonu olur. Plazma ve çekirdek kondansasyonunu takiben kromatinin kümelenmesi şekillenir. Kromatindeki değişikliklerin başlamasının hemen öncesinde sitozolik Ca<sup>++</sup> düzeyinde önemli bir artış olmaktadır. Kromatin kondansasyonu, nukleozomlar arasındaki bağlantı bölgelerinin ayrılması ile karakterizedir. 180-200 baz çiftinden oluşan parçalar, elektroforezde ip merdiven (*ladder*) görüntüsü oluşturur (14). İnternükleozomal DNA parçalanmasının kalsiyum artışına duyarlı endonükleazlar ile olduğu ileri sürülmektedir. Endonükleazlar timositler gibi bazı hücrelerde yapısal olarak bulunur, bazı hücrelerde

**Tablo 1.** Apoptoz ve nekrozun başlıca özellikleri (17)

ÖZELLİKLER	Nekroz	Apoptoz
Uyaran	Toksinler, ciddi hipoksi, ağır yara ve ATP tüketimi	ATP tüketimi olmaksızın fizyolojik ve patolojik koşullar
Enerji gereksinimi	Yok	ATP'ye bağlı
Histoloji	Hücrel şişme, organel bozukluğu, doku parçalarının ölümü	Kromatin kondensasyonu, apoptotik cisimcikler, izole tek hücrenin ölümü
DNA kırık modeli	Düzensiz rastgele kırıklar şeklinde	185 baz çiftlik kırıklar şeklinde "ip merdiven" görüntüsünde
Plazma zarı	Parçalanmış	Moleküler değişikliklerle birlikte parçalanmamış
Hücrelerin fagositozu	Fagositlerin göçüyle	Komşu hücrelerle
Doku reaksiyonu	İnflamasyon	İnflamasyon yok

ise apoptozun başlamasından önce transkripsiyon ile oluşturulur. Hücrenin parçalanmasıyla nükleer materyal içeren zarla çevrili "apoptotik cisimcikler" oluşur. İki katlı lipit tabakada fosfolipit asimetrisi, hücre zarının bir özelliğidir. Fosfolipidler, yani iç tabakada bulunan fosfatidilserin (PS) ve fosfatidiletanolamin (PE) ve dış tabakada bulunan fosfatidilkolin (PC) asimetrik olarak dağılmışlardır. Normal hücrelerde bu asimetri ATP'ye bağlı translokaz ile aktif olarak korunmaktadır. Apoptoz sırasında ya ATP translokaz yetmezliği ya da diğer enzim sisteminin aktivasyonu PS'nin dış yüzey tabakaya yerleşmesi ile sonuçlanır. Bu durum, apoptotik cisimciğin fagositozu için bir uyarıdır (3). Apoptotik cisimcikler, sitokin salgılanmasını ve inflamasyon oluşumunu uyarmaksızın, makrofajlar ya da komşu hücreler tarafından fagosite edilirler. Apoptoz 30-60 dakika gibi bir sürede tamamlanır (9). Hücre iskeleti apoptozda önemli bir role sahiptir ve stabilizasyonu apoptozu engellemektedir. Apoptotik hücrelerin dokudan uzaklaştırılması ve yerine yenilerinin konması ise günlük  $1 \times 10^{11}$  hücre olarak tahmin edilmektedir ve bu yetişkin bir bireyin total vücut ağırlığının her 18-24 ayda bir değişimine eşittir (3).

## 2. Nekroz

Nekrozda apoptozdan farklı olarak hücrel şişme yerine şişme olur, bu nekrozun erken belirtisidir. Patolojik hücre ölümü yani nekrozun klasik nedenleri içinde ise hipertermi, oksidatif

fosforilasyon-Krebs siklusu ya da glikolizisin inhibisyonu, otolizis, hipoksi ve çeşitli toksinler yer alır (15). Hücre tarafından genlerle programlanmayan ve çeşitli dış etkenlerle gerçekleşen nekrotik hücre ölümünde; enerji depolarında ani azalma ile birlikte hücre zarının geçirgenliği bozulur ve sodyum ile suyun hücre içerisine girmesine neden olur, böylece hücre şişer. Ayrıca hücreyle birlikte mitokondirilerde de şişme gözlenir, diğer organeller ise plazma içinde dağılır. Şişme sonucunda hücre zarı patlar ve bütünlüğünü kaybeder, proteolitik enzimler içeren plazma, hücreler arası boşluğa sızar, doku çevresinde inflamasyon ile birlikte zedelenme oluşturur (16,17) (Tablo 1).

## Apoptozun Gen Regülasyonu

Apoptozun genetik mekanizması ilk kez *Caenorhabditis elegans* isimli nematodun gelişim aşamalarında belirlenmiştir. *C. elegans*'ın gelişim sürecinde 1090 somatik hücre oluşmaktadır; fakat bunlardan 131 hücre ölmektedir. Bu programlı hücre ölümünü gerçekleştiren genler, araştırmacılar tarafından ced-3 ve ced-4 olarak tanımlanmıştır. Bu genlerden biri ya da her ikisi de mutasyona uğradığı zaman bu 131 hücre yaşamaya devam etmektedir (12,18,19). Ced-3 geni bir sistein proteazı şifrelemektedir ve memelilerdeki sistein proteazlardan ICE (*Interleukin-1 $\beta$ -Converting Enzyme*)'ye benzemektedir. Ced-4 ise kalsiyuma bağlı bir proteini şifrelemekte ve memelilerde apaf-1 ile homoloji göstermektedir. Ced-9'un insandaki homologu olan Bcl-2 proto-onkojen gen

ailesi ise apoptozu durdurmaktadır (13,19,20). Bugün nematodlardan başka bitki, hayvan gibi bütün canlı gruplarında apoptoz çalışmaları sürdürmektedir (21). Apoptozun regülasyonu nematodlardan insana kadar çoğu aynı gen kontrol süreci ile oldukça sıkı bir biçimde korunmaktadır. Ölüm sinyali, gen ekspresyonu ile düzenlenebilmesine rağmen, süreç genotoksik hasar (kemoterapi, radyasyon vb) veya sitokinlerin olmaması gibi (eritropoietin vb) farklı uyaranlarla harekete geçirilebilir. DNA tek veya çift iplik parçaları ve nükleotit azlığı, DNA-bağlı transkripsiyon faktör p53 ile başlayan bir dizi olayı aktive eder ve hücre apoptotik yola girer (3).

### 1. p53'ün Rolü

İnsanda apoptozun düzenlenmesi, p53 ile başlayan ve kaspazlara kadar devam eden bir süreçtir. Bir tümör süpresör gen olarak çalışan p53 mutasyona uğradığı ya da bulunmadığı zaman hücre yaşamı uzar. Genotoksik olaylarla oluşan hücre hasarı, bir transkripsiyon regülatör geni olan p53'ü aktive eder. p53 protein ürünü, DNA'ya doğrudan bağlanarak hasarı tanıdıktan sonra, ya G1'de hücre siklusunun durmasını indükleyerek tamir için gerekli zamanı kazanır ya da hasar fazlaysa apoptozu yönlendirir. Ayrıca p53'ün Bax/Bax, Bax/Bcl-2, Bcl-2/Bcl-2 gruplarının oranlarını düzenlediği düşünülmektedir (3).

### 2. Bcl-2/Bax

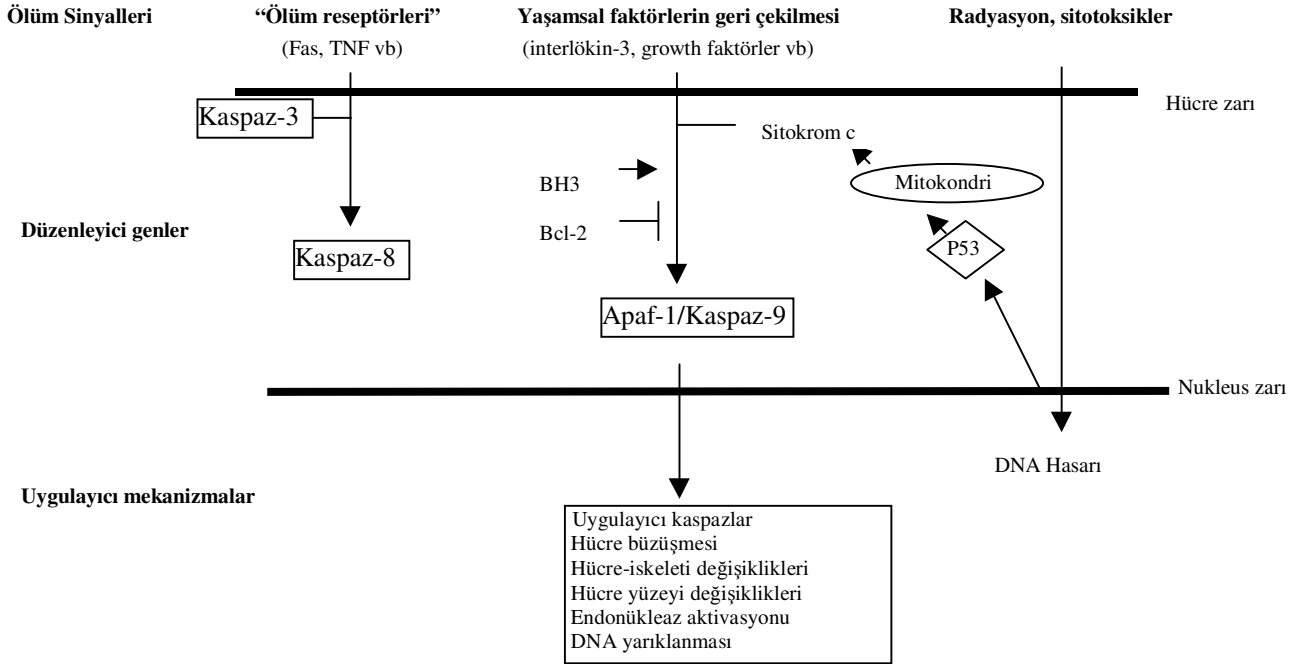
Apoptozun regülasyonu Bcl-2/Bax gen ailesi ile sağlanır (3,22). Bu ailenin 20 üyesi tanımlanmıştır (23); bunlardan bazıları Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Boo, Mcl-1 gibi apoptoz inhibitörüdür (antiapoptotik), bazıları ise apoptozu uyarır ve proapoptotik genler olarak tanımlanır. Proapoptotik genler: Bax (Bax, Bak ve Bok) ve BH3 (Bik, Blk, Hrk, BNIP3, Bad, Bid gibi) olmak üzere iki alt aileye sahiptir (11). Bcl-2/Bax gen ailesinin ürünleri, mitokondiri ve çekirdek zarlarının yanısıra endoplazmik retikulum zarının üzerinde de yer alırlar ve homodimer ya da heterodimerler şeklinde kompleks oluşturarak çalışırlar (3,17). Örneğin; Bcl-2 nin Bax ile olan etkileşiminde Bcl-2 nin oranının

daha yüksek olması hücrenin yaşamını sürdürmesini sağlarken, Bax'ın daha fazla olması durumunda hücre ölüme gitmektedir (14).

Son yıllardaki, hücrenin yaşamı ya da ölümü konusundaki araştırmalar dikkatleri mitokondiri üzerinde toplamıştır (9). Mitokondiriler çift zarlı organellerdir. Bcl-2, 24-26 kDa'luk protein kodlayan bir proto-onkogendir ve ürettiği protein, mitokondirinin sitoplazmaya dönük dış zarı üzerinde ve endoplazmik retikulumun bir bölümü olan çekirdek zarında yerleşmiştir (24). Bu proteinler, iyon alış-verişini düzenler ve zarın parçalanmasına karşı koruyucu etki yaparlar. Özellikle anti-apoptotik genler içinde yer alan Bcl-xL'in mitokondiriyal hasarı engelleyerek mitokondiriyi koruduğu ileri sürülmektedir. Bu sayede apoptoz inhibisyonu gerçekleşmektedir (11). Bcl-2 ailesinin bir diğer ilginç özelliği de reaktif oksijen düzeylerinin apoptoz üzerindeki etkilerini pro-oksidan gibi davranarak kontrol etmesidir (9). Bax proteinleri sitoplazmada da bulunur. Apoptotik sinyalin alınmasından sonra Bax proteinleri, mitokondiri zarının "permeabilite geçiş poru" na doğru yönelirler ve buraya bağlanırlar. Bu bağlanma, seçici iyon geçirgenliğini (permeabilitesini) azaltabilir. Zardaki bu değişiklikler nedeniyle sitokrom c ve AIF (*Apoptosis Inducing Factor*) gibi mitokondiri zarı içinde yer alan faktörler sitoplazmaya geçerler. AIF, doğrudan kromatin kondansasyonunun ve nükleer fragmentasyonun meydana geldiği çekirdeğe doğru yönelirken, sitoplazmadaki sitokrom c apoptozun en son basamağında görev alır. Sitokrom c, bir sitoplazma proteini olan Apaf-1' in aktivatörüdür (3). Sitokrom c'nin Apaf-1'e bağlanması prokaspaz-9'u aktive eder ve oluşan bu kompleks "apoptosom" olarak isimlendirilir (25). Prokaspaz-9'un aktivasyonu, bir seri kaspaz aktivasyonunu başlatır (3) (Şekil 1). Apaf-1 aynı zamanda ATP'ye de bağlanır. Bu olay apoptozun neden enerji gereksinimi duyduğunu açıklamaktadır (17).

### 3. Kaspazlar

Apoptoz mekanizmasında üç temel grup rol alır. Bunlar: Ölüm reseptörleri, adaptör proteinler ve proteolitik enzimlerdir (kaspazlar) (9,17). Ölüm



Şekil 1. Apoptozun mekanizması (23).

reseptörleri; TNF (*Tumour Necrosis Factor*) reseptör gen ailesine aittir. Bu reseptör polipeptidlerin sitoplazmik bölümleri, ölüm alanı (*Death Domain*) adı verilen bir aminoasit dizisini içerir ve adaptör proteinlere bağlanırlar (9). Bilinen altı tane ölüm reseptörü, CD95 (APO-1/Fas), TRAIL (TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand)-R1, TRAIL-R2, TNF-R1, DR3 ve DR6 vardır (26). Adaptör proteinler, reseptörle gelen sinyal sonucunda kaspazlara bağlanıp onları aktive ederler. Bu reseptörlerin en çok bilinenleri TNF reseptörü-1 (TNFR1) ve Fas (CD95) karaciğerde bol miktarda bulunur. Fas'ın etkisiyle kaspaz dizisi (kaskadı) aktive olur ve kaspazla aktive olan DNaz (*caspase-activated DNase; CAD*) aracılığı ile DNA yıkımına neden olur (9). Memeli hücrelerinde sistein proteaz ailesinden olan kaspazların aktif merkezinde sistein yer alır ve sitoplazmada inaktif prokürsörler olarak bulunur. Diğer adı ile ICE proteazlardır ve bir proteaz aktivasyon dizisi (şelalesi) başlatarak sitoplazmik proteinlerin yıkımında rol almaktadır, bu sırada nukleazlar da aktive olarak DNA fragmentasyonu ve RNA degradasyonu gerçekleştirmektedir (8). Sitokrom c'nin sitoplazma içine sa-

lınması ile apoptozun son basamaklarından sorumlu enzim sistemi olan kaspazlar aktive olur. Şimdiye kadar sitozolde bulunan 14 kaspaz tanımlanmıştır (27,28); inflamasyonu uyaran ve ilk kez bir proteaz olarak tanımlanan ICE, prokaspaz-1 olarak isimlendirilmiştir. Kaspazlar bir seri olaylar dizisinde diğer prokaspazları aktive ederler. Kaspazlar; sitokin üretimine katkıda bulunanlar (kaspaz 1,4,5,13), proteolizisin "başlatıcıları" (kaspaz 2,8-10) ya da "uygulayıcıları" (kaspaz 3,6,7) olarak sınıflandırılırlar (9,11). Ölüm sinyali veren başlatıcı kaspazlar, adaptöre bağlanırlar ve ölüme yönlendirirler ama infazı gerçekleştirmezler bunu yapacak olanları aktifleştirirler. İnfazı gerçekleştiren uygulayıcı (effektör) kaspazlardır. Uygulayıcı kaspazlar, başlatıcı kaspazların akışını aktive ederler (9).

Apoptotik programın merkezi bileşeni kaspazlardır (7). Kaspaz aktivasyonu hücreye özgüdür ve kaspaz inhibitörlerinin (IAP) efektör kaspazları inhibe ederek apoptozu engellediği gösterilmiştir (9). Ayrıca IAP (*Inhibitors of Apoptosis*) ailesinin kaspazlardan ayrı olarak,

transkripsiyon faktörlerin modülasyonu ve hücre siklusunun kontrolünde de yer alarak apoptozu inhibe ettiği bilinmektedir. Bu inhibitörler malign hücrelerde aşırı olarak gözlenirler (3). Kaspazlar, proteinleri yalnızca aspartik asit bulunan bölgelerden keser, bu nedenle *c-asp-ases* adını almışlardır. Böylece kaspazların kısıtlı proteolizisi nedeniyle, hücrede lizis şekillenmez ve apoptotik cisimcikler oluşur (3,7).

## Apoptozun Sitotoksik Regülasyonu

### 1. Granzim veya Perforin Sistemi

Bu salgısal apoptotik yol, patojenle infekte hücreler ve tümör hücrelerinin ortadan kaldırılmasında etkilidir. Perforinler ve granzimler, sitotoksik T lenfositler (CTL) ve *Naturel Killer* (NK) hücrelerinin sitoplazmik salgı granülleri içinde bulunan proteinlerdir. CTL reseptörü hedef hücreye bağlandığında, perforinler salgılanır ve salgılanan perforinler hedef hücre üzerinde dairesel bir por oluştururlar. Bu perforin poru, hücre içi kalsiyumda hızlı bir artışa neden olur. Granzim B, reseptör aracılığı ile bir vezikül içinde açılan delikten hedef hücreye girer. Hücre içine giren perforin proteini, vezikülden granzim B'nin serbest kalmasını sağlar. Bu andan itibaren granzim B hızlı bir şekilde DNA fragmentasyonunu ve apoptoz ile birlikte prokaspaz aktivasyonunu başlatır. Bununla birlikte granzim A'da, perforinle sinerjik olarak kaspaz bağımsız yolda apoptozda rol alır.

### 2. Fas - Fas Ligandı veya CD95 Yolu

Apoptozun salgıdan bağımsız mekanizması, hücre zarı üzerinde bulunan "ölüm reseptörlerinin" aktivasyonu ile ilişkilidir. Fas (CD95), hücre yüzey reseptörüdür ve tümör nekroz faktörü ailesinin bir üyesidir. Apoptotik işaretin uyarıcısı olan Fas, birçok hücre tipinde sergilenir. Fas ligandı (FasL), TNF ailesinin bir üyesidir. Özellikle sitotoksik T hücreleri ve NK hücreleri üzerinde bulunur. FasL nin Fas reseptörüne bağlanması ile apoptotik işlem başlar. Bu mekanizma, bir immün tepki sonunda aktive olmuş T hücrelerinin uzaklaştırılması, virüs-

infekte hedef hücrelerin ortadan kaldırılması, tümör hücrelerinin öldürülmesi ve birçok patolojik durumdaki hücrelerin uzaklaştırılmasında önemli rol oynar. TNF'in TNFR-1'e bağlanmasıyla da benzer olaylar şekillenir.

Fas ve TNFR-1 in sitoplazmik uzantısı, bir ölüm alanını (*Death Domain, DD*) içerir. Fas'ın sitoplazmik bölümü FADD (*Fas Associating protein with a Death Domain protein*) ve RIP (*Receptör Interacting Protein*) ile etkileşimdedir. Ölüm alanlarını içeren bu TRADD ve RIP proteinleri, prokaspaz-8'in aktivasyonu ile apoptozu doğrudan uyarırlar. Aktive olan kaspaz - 8 daha sonra diğer uygulayıcı kaspazları aktive eder (3).

## Apoptozun Rol Aldığı Fizyolojik Olaylar ve Hastalıklar

Apoptoz birçok fizyolojik ve patolojik olayda etkin rol oynamaktadır. Fizyolojik olayların başında hücre yapım-yıkımı gelir. Deri, barsak epiteli, kan hücreleri gibi hücre yapım-yıkımının hızlı olduğu dokularda yaşanan hücreler apoptozla ortadan kaldırılarak yeni hücrelere yer açılır. Embriyogenez ve metamorfoz sürecinde; fetusun implantasyonundan organogenezise kadar tüm gelişim sürecinde yer alır (1). İnsanın embriyolojik gelişiminde; parmak aralarındaki zarın, sinir sisteminde istenmeyen nöronların ortadan kaldırılmasında, kurbağa tetarında kuyruğun ayrılmasında apoptoz rol oynar (29). Erişkinde hormona bağlı involüsyonda; örneğin, menstrüel siklusta endometriyal hücre yıkımı, menapozda folikül atrezisi, laktasyonun kesilmesinden sonra meme bezlerinin küçülmesinde apoptoz görülür (1,19). Bağışıklık sistemi hücrelerinin seçiminde de apoptoz önemli rol oynamaktadır (30). Apoptozun en klasik örneği sayılan yenidoğan timusunun involüsyonu sonucunda T lenfositlerin yaklaşık % 98'i seleksiyona uğramaktadır. Ayrıca B hücrelerinde de apoptozun baskılandığı belirtilmektedir. Bunun fizyolojik önemi, B lenfositlerinin duyarlı olduğu uyarılarla yeniden karşılaşması durumunda hazır bulunmasını sağ-

**Tablo 2.** Hastalıklarda apoptozun rolü (18)

Apoptozun artmasıyla ilgili hastalıklar	Apoptozun azalmasıyla ilgili hastalıklar
<ol style="list-style-type: none"> <li>Nörodejenaratif bozukluklar Alzheimer hastalığı Amyotrofik lateral skleroz Creutzfeld-Jakob hastalığı Huntington hastalığı Parkinson hastalığı <i>Retinitis pigmentosa</i> Spinal muskular atrofi</li> <li>Hematolojik bozukluklar Aplastik anemi Fanconi anemisi Hodgkin hastalığı Myelodisplastik sendromlar <i>Polycythemia vera</i></li> <li>Otoimmün bozukluklar Fulminant hepatit Graft-versus-host hastalığı Hashimoto tiroiditisi İnsüline bağımlı diyabet Multipl skleroz Romatoid artrit Skleroderma Sjögren sendromu</li> <li>İskemik yaralanma İskemi ve reperfüzyon Böbrek enfarktüsü Miyokardial enfarktüs İnme</li> <li>Toksinlere bağlı hastalıklar Alkole bağlı hepatit Pulmonar fibrozis Sepsis</li> <li>Bakteriyal ve viral enfeksiyon Kazanılmış immün yetersizlik sendromu (AIDS) Ebola virüsü <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Helicobacter pylori</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Salmonella typhimurium</i> <i>Shigella flexneri</i></li> <li>Diğerleri Travmatik spinal kord yaralanması Tümör karşı-atağı (immün ayrıcalık)</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>Kanser Blastom Karsinom Lösemi Lenfoma Malign gliom Sarkom Seminom</li> <li>Premalign hastalıklar <i>Ataxia telangiectasia</i> Paroksimal nokturnal hemoglobinüri Myelodisplastik sendromlar <i>Xeroderma pigmentosum</i></li> <li>Otoimmün bozukluklar Otoimmün lenfoproliferatif sendrom (tip I ve II) Sistemik lupus erythematosus</li> <li>Ateroskleroz</li> <li>Metabolik bozukluklar Niemann-Pick hastalığı Osteoporoz Wilson hastalığı</li> <li>Viral enfeksiyonlar <i>Adenoviruses</i> <i>Baculoviruses</i> <i>Epstein-Barr Virus</i> <i>Herpesviruses</i> <i>Poxviruses</i></li> </ol> <p><b>Prematür ve fizyolojik yaşlanmada apoptoz</b> Down sendromu Erken yaşlanma (<i>Progeria</i>) <i>Xeroderma pigmentosum</i></p>

lamaktır (1,30).

Patolojik olarak sayabileceğimiz olaylarda ise; tümörlerde hem regresyon hem de büyüme aşamasında rol oynar. Yine hormona bağımlı olarak dokularda patolojik atrofi sırasında; örneğin kastrasyondan sonra prostat atrofisi ya da glukokortikoid kullanımından sonra timusta lenfo-

sit kaybı apoptoz yoluyla olur. Pankreas, tükrük bezi, böbrek tubulusları gibi parankimatöz organlarda duktus tıkanmasından sonra patolojik atrofide gözlenir. Sitotoksik T hücreleri ile oluşturulan hücre ölümü, immün rejeksiyon ve *graft versus host* reaksiyonlarında da apoptoz rol alır. *AIDS* ve diğer viral hastalıklarda: Viral hepatitte görülen ve *Councilman* cisimcikleri olarak bilinen apoptotik

**Tablo 3.** Apoptoza müdahale edilerek geliştirilen tedavi örnekleri (23)

<b>Mevcut tedaviler</b>	
Aspirin, sikloksijenaz-2 inhibitörleri	Non-steroidal anti-enflamatuvarların kolorektal adenoma ve kansere karşı koruyucu olduğu kanıtlanmıştır. Bu etki, sikloksijenaz-2 enziminin inhibisyonu doğrultusunda apoptozun indüklenebilmesinden dolayı olabilir.
Antikanser ilaçları, radyoterapi	Aslında bütün sitotoksik ilaçlar ve radyoterapi normal hücrelerde ve tümörlerde apoptozu indükler. p53 e bağımlı ve bağımsız mekanizmalar tanımlanmıştır.
<b>Yeni tedaviler</b>	
Bcl-2 <i>antisense</i>	İlk klinik çalışmalar, <i>non-Hodgkin's lenfoma</i> gibi bazı hastalıkların olumlu sonuç verdiğini göstermiştir.
Rekombinant TRAIL	Akciğer, göğüs, kolon ve böbrek kanserlerinin TRAIL' e karşı duyarlı olduğu ve apoptozu uyardığı prelinik çalışmalarla kanıtlanmış ve desteklenmiştir.
Kaspaz inhibitörleri	Travmatik beyin yaralanması, amiyotrofik lateral skleroz ve Parkinson hastalığında pozitif prelinik hayvan modelleri
Antioksidanlar	<i>Pyrolidinedithiocarbamate</i> ve <i>6-hidroksi-2,5,7,8- tetramethylchroman-carboxylic acid</i> (bir E vitamini analogu) floroaçil artışıyla kolorektal kanser hücrelerinde apoptozu indükler.
Interlökin-1 reseptör antagonistleri	Sıçan modellerinde iskemik beyin hasarında azalma

hücreler gibi; bazı kalp hastalıklarında; romatoid artrit ve multipl skleroz gibi bazı otoimmün hastalıklarda; inme, *Alzheimer*, *Parkinson*, *Huntington* ve *Lou Gehrig* gibi bazı nörodejenaratif bozukluklara bağlı hastalıklarda; ve kanserde apoptoz mekanizması devreye girer. Bu nedenle apoptoz mekanizması tam olarak anlaşıldığında belki de bu hastalıkların tedavisi mümkün olabilecektir (2,17,18,23) (Tablo 2).

### **Tedavide Apoptoz**

Bugün birçok hastalığın hücre ölümü ya da yaşamı ile ilgili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle apoptotik sürece müdahale ederek yeniden düzenlenmesi, önemli tedavi yöntemlerini gündeme getirebilir. Potansiyel tedavi yöntemleri üç kategoria toplanabilir: (1) gen tedavisi (p53'ün yedeklenmesi vb) (2) apoptoz moleküllerinin düzenleyicilerini hedefleyen moleküllerin enjeksiyonu (Growth faktörler ve çözülebilir FasL vb) (3) apoptozla ilişkili genlerin ifadesini (ekspresyonunu) düzenleyen farmakolojik küçük moleküller (Bcl-2 vb). Bugüne kadar non-steroidal anti-inflamatuvarlar gibi apoptoz düzeyini değiştirdiği bilinen birçok ilaç vardır. Aslında bütün sitotoksik

ilaçlar ve radyoterapi programları tümör hücrelerinde apoptozu başlatır ve apoptoza olan direnç tedavideki başarısızlığı getirir. Üstelik bu tedaviler, normal hücrelerde de apoptozu başlatır ve kemik iliği üzerinde olumsuz yan etkileri vardır. Bu nedenle son zamanlarda geliştirilen yeni birçok tedavi denemeleri prelinikte ümit vericidir (23). Bu yeni denemelerle ilgili bir çalışma, hatta belki de en iyisi Dr Avi Ashkenazi'nin TRAIL ligandı ile ilgili çalışmasıdır. TRAIL, TNF ligand ailesinin bir üyesidir ve hücre yüzeyindeki ölüm reseptörleri DR4 ve DR5'e bağlanır. Bu reseptörlere bağlanma apoptozu başlatır. Hemapoietik ve solid tümörlerin, TRAIL tarafından başlatılan apoptoza hayli duyarlı olduğu birçok laboratuvar çalışmasında gösterilmiştir. Çoğu normal hücrenin ise, DR4/5 in eksprese olmasına rağmen tersine TRAIL'e direnç gösterdiği gözlenmiştir. Dr Ashkenazi, TNF nin tersine, yüksek doz TRAIL'in maymunlar tarafından tolere edilebildiğini ve sitotoksik etkisinin olmadığını da göstermiştir. Ancak insan hücreleri üzerindeki etkisi henüz bilinmemektedir (25). Apoptozla ilgili mevcut ve yeni geliştirilen tedavi yöntemleri tablo halinde verilmiştir (23) (Tablo 3).



Ayrıca virüsler ve bazı intraselüler bakteriler canlılıklarının devamı için farklı stratejiler geliştirmişlerdir. Örneğin: Bcl-2'ye benzer bir protein şifrelemek (*Adenovirus*); Bcl-2'nin ekspresyonunu uyarmak (*Epstein-Barr Virus*); Prokaspaz 1 ve 8'i inaktive eden proteaz inhibitörü şifrelemek (*cowpox*); mitokondriyal sitokrom c'nin sitozol içine salınımına müdahale etmek gibi (3). Virüs ve bakterilerin bu davranışlarının tedavide kullanılabilmesi düşünülmüştür. Örneğin; *cowpox* CrmA ve *baculovirus* p35 gibi (17). CrmA ineklerde görülen çiçek virüsünden elde edilir ve başlatıcı kaspazları inhibe eder. Asıl etkisi virüsün ilerleyebilmesi için inflamasyonun ve hücre ölümünün engellenmesidir. p35 ise bir *baculovirus* proteindir ve kaspaz aktivasyonu ile etkileşim içinde olan genel bir apoptoz inhibitörüdür. Özgül olarak, kaspaz 1, 2, 3 ve 4'ü inhibe eder. Bunların dışında apoptoz inhibisyonu yapan başka proteinler olduğu gibi sentetik özgül kaspaz inhibitörleri de üretilmektedir (9). Bütün bu apoptoz inhibitörlerinin tedavi amacıyla kullanılması çalışmaları sürmektedir.

Sonuç olarak; doku homeostazı, hücre çoğalması, farklılaşması ve ölümü arasındaki uyumlu ilişkiye bağlıdır. Apoptozun önemi, çeşitli biyolojik olaylarda gereksiz, hasarlı ya da zararlı hücrelerin inflamatuvar yanıt olmaksızın yok edilmesini sağlamasından ve organizmanın iç dengesinin devamlılığına katkıda bulunmasından ileri gelmektedir. Canlı doku ortamında hücrelerin tek tek iz bırakmaksızın silindiği fizyolojik bir ölüm şekli olan apoptoz ilgi çekici olduğu kadar insanlardaki önemli patolojilerin tedavisi açısından da umut verici bir mekanizmadır. Bu süreçte, kaspaz ailesi üyeleri ve Bcl-2/Bax ailesindeki genlerin ekspresyonları önemli yer tutmaktadır. Bu konu ile ilgili yoğun araştırmaların sürmesi tıpta pek çok soruna yanıt getireceği inancını desteklemektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Hızel N. Apoptoz (Programlanmış Hücre Ölümü). Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi 1997; 6:196-7.
2. Bylinsky G. Cell suicide: the birth of a megamarket.

- Fortune 1995; 131:75-6.
3. Israels LG, Israels ED. Apoptosis. The Oncologist 1999; 4:332-9.
4. Nagata S. Fas ligand-induced apoptosis. Annual Review of Genetics 1999; 33:29-55.
5. Kidd VJ. Proteolytic activities that mediate apoptosis. Annual Review of Physiology 1998; 60:533-73 .
6. Kroemer G, Dallaporta B, Resche-Rigon M. The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis. Annual Review of Physiology 1998; 60:619-42.
7. Hampton MB, Orrenius S. Redox regulation of apoptotic cell death. Biofactors 1998; 8:1-5.
8. King KL, Cidlowski JA. Cell cycle regulation and apoptosis. Annual Review of Physiology 1998; 60:601-17.
9. Büyükgebiz O, Caferler JS. Apoptoz. Sendrom 2001; 13:102-7.
10. Thompson EB. The many roles of c-Myc in apoptosis. Annual Review of Physiology 1998; 60:575-600.
11. Budihardjo I, Oliver HLM. Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. Annual Review of Cell and Developmental Biology 1999; 15:269-90.
12. Hart S. The drama of cellular death. Bioscience 1994; 44:451-5.
13. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. Molecular Biology of The Cell. New York: Garland Publishing. 1994: 1076.
14. Behnia M, Robertson KA, Martin WJ. Role of apoptosis in host defense and pathogenesis of disease. Official Publication of The American College of Chest Physicians (CHEST) 2000; 117:1771-7.
15. Thompson EB. Apoptosis. Annual Review of Physiology 1998; 60:525-32 .
16. Nanji AA, Hiller-Sturmhöfel S. Apoptosis and necrosis: two types of cell death in alcoholic liver disease. Alcohol Health and Research World 1997; 21:325-30.
17. Hets SW. To die or not to die. The Journal of The American Medical Association (JAMA) 1998; 279:300-7.
18. Fadeel B, Orrenius S, Zhivotovsky B. Apoptosis in human disease: A new skin for the old ceremony? Biochemical and Biophysical Research Communications 1999; 266 :699-717.
19. Kaipia A, Hsueh AJW. Regulation of ovarian follicle atresia. Annual Review of Physiology 1997; 59:349-63.
20. Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: Signaling and Modulation. Science 2001; 281:1305-8 1998.
21. Gilchrist, D.G. Programmed cell death in plant disease: the purpose and promise of cellular suicide. Annual Review of Phytopathology 1998; 36:393-414.
22. Chao DT, Korsmeyer SJ. BCL-2 family: regulators of cell death. Annual Review of Immunology 1998; 16:395-419.
23. Renehan AG, Booth C, Potten CS. What is apoptosis, and why is it important? British Medical Journal/(Clinical Research Ed.) (BMJ) 2001; 322:1536-8.

24. Roulston A, Marcellus RC, Branton PE. Viruses and Apoptosis. Annual Review of Microbiology 1999; 53:577-628.
25. Johnson DE. Programmed cell death regulation: basic mechanisms and therapeutic opportunities. Leukemia 2000; 14:1340-44.
26. Eichhorst ST, Krammer PH. Derangement of apoptosis in cancer. The Lancet 2001; 358:345-6.
27. Wang J, Chun HJ, Wong W, Spencer DM, Lenardo MJ. Caspase-10 is an initiator caspase in death receptor signaling. Proceedings of The National Academy of Science of The United States of America (PNAS) 2001; 98:13884-8.
28. Strasser A, O'Connor L, Dixit VM. Apoptosis signaling. Annual Review of Biochemistry 2000; 69:217-45.

29. Başaran A. Tıbbi Biyoloji (Ders Kitabı). Bursa: Nobel&Güneş Tıp Kitap Evi, 1999: 169-74.
30. Ganea D. Apoptosis and the immune response (book review). Bioscience 1996; 46:705.

---

**Geliş Tarihi:** 26.09.2002

**Yazışma Adresi:** Dr.A. Gaye TOMATIR  
Pamukkale Üniversitesi Denizli  
Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu  
Kınıklı, DENİZLİ