

# Apoptozis

APOPTOSIS

A.Meltem YALINAY ÇIRAK\*, Turgut İMİR\*\*

\* Araş.Gör.Dr.Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ABD,  
\*\* Prof.Dr.Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ABD, ANKARA

## ÖZET

Apoptozis veya programlanmış hücre ölümü, inflammatuar cevap oluşturmadan hücrelerin ölümü ile sonuçlanan bir seri kontrollü olaylar zinciridir.

Bu yazıda, apoptozisin morfolojik, biyokimyasal özellikleri, regülasyonu, immün sistem kontrolündeki rolü ve AIDS patogenezindeki önemi gözden geçirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Apoptozis, Immün sistem, AIDS

**T Klin Tıp Bilimleri 1995, 15: 319-326**

Apoptozis, normal yetişkin dokuların erken gelişim ve büyüme döneminde önemli rol oynayan morfolojik olarak farklı bir çeşit hücre ölümüdür (1). Çoğunlukla programlanmış hücre ölümü, hücre intiharı ile aynı anlama gelir (2).

Hücre ölümünün belirtileri sıklıkla çevresel faktörler veya hastalık durumlarına maruz kalmayla birlikte görülür. Açıkça görülen hücre ölümüne inflamasyon eşlik eder. Hücrelerin ortadan kaldırılmasının diğer bir formu yönlendirilen ve kontrol edilen şekilde olup, hücre dönüşümünün düzenlenmesinde, istenmeyen hücrelerin uygun zamanlamada, çevre dokularda herhangi bir hasara neden olmadan ortadan kaldırılması sırasında görülür. Bu durum apoptozis olarak adlandırılır (2,3).

## TARİHÇE VE TERİNOLOJİ

Omurgalı ve omurgasızların normal gelişimindeki hücrelerin ölümü, 1951 yılında Glucksmann (4), 1966 yılında Saunders (5) tarafından tanımlanmıştır. 1965 yılında Kerr (6), portal ven ligasyonundan sonra karaciğer hücresinde çeşitli ölüm tipleri tanımlanmıştır.

**Geliş Tarihi:** 23.11.1994

**Yazışma Adresi:** Noktalı Sok. No:7/18  
Gaziosmanpaşa, ANKARA

## SUMMARY

Apoptosis, or programmed cell death, is a series of controlled sequential events resulting in the demise of cells without invoking an inflammatory response.

In this article, morphological and biochemical characteristics of apoptosis, its regulation and its role in the control of immune system and importance in AIDS pathogenesis were reviewed.

**Key Words:** Apoptosis, Immune system, AIDS

**T Klin J Med Sci 1995, 15: 319-326**

1971 yılında yine Kerr, "büzüşme nekrozu" olarak adlandırdığı yapının ultrastrüktürünü kondanse kromatin parçaları içeren ve organelleri iyi korunmuş nüklear kümeleri membrana ilişik cisimler olarak tanımlamıştır (7). Bu morfolojik değişiklikler, fizyolojik stimuluslar altında çeşitli hayvan dokularında da gösterilmiş. Kerr ve Searle buna Yunancada bozulmak, azalmak anlamına gelen "apoptozis" adını vermişler ve bunun mitozla zıt bir rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir (8).

1979 yılında Kerr, Wyllie ve Currie apoptozisin nekrozdan farklı bir hücre ölüm tipi olduğunu göstermişlerdir (2,9).

Apoptozis terimi, bazen letal bir genetik programı kasteden "programlanmış hücre ölümü" ile sinonim kullanılır (1). Embriyonik gelişme sırasında görülen bazı hücre popülasyonlarının ortadan kaldırılması da apoptozis ile gerçekleşir (1,3).

Sonuç olarak apoptozis terimi, gelişme ve büyüme regülasyonunda önemli rolü olan spesifik bir hücre ölüm şekli için kullanılır.

## GENEL ÖZELLİKLER

1. Apoptozis fizyolojik stimuluslarla regüle edilir, birçok tür ve dokuda bulunur (1-3). Hücre ölümünün fizyolojik olarak kabul edildiği durumlarda apoptozis en çok görülen morfolojidir. Örneğin;

—Yarı ömrü kısa hücrelerin ölümü (nötrofiller gibi),  
—Self reaktif T hücrelerin ortadan kaldırılması,  
—Gerekli büyüme faktörlerinden yoksun hücrelerin involusyonu,

—Embriyonik ve erken postembriyonik gelişme sırasında hücrelerin morfojenetik ölümü,

—T hücreler, NK hücreler veya antikora bağımlı hücreler ile oluşan sitotoksik mekanizmalar için targer olarak görev yapan hücrelerin ölümü (3).

#### 2. Başlıca morfolojik özellikleri:

—Nüklear fragmantasyon,

—Hücrelerin apoptotik veziküllere parçalanması.

#### 3. Başlıca biyokimyasal özellikleri:

—İzole edilen endonükleaz aktivitesinin sonucu olan internükleozomal DNA, RNA ve protein sentez inhibitörleri kullanılarak yapılan deneyler apoptozisin kontrolünde, intrasellüler repressör ve indüktörlerin varlığını öne sürer (1,9).

Hastalığın sellüler temeli, hücre hasarı ve hücre tamirine dayanır. Bu durum şiddetli vakalarda, hücre ölümü ile sonuçlanıp, organizmaya zarar verebilir. Hücre ölüm tiplerinden apoptozis;

4. Hasar sonucu değildir.

5. Reversible değildir.

6. Konağa zararlı olmayabilir.

7. Normal durumun devamı için gereklidir.

8. Daima hasar sonucu ortaya çıkan nekrozdan oldukça farklıdır (1-3,9).

## MORFOLOJİK ÖZELLİKLER

Apoptozisde hücresel değişiklikler çeşitlidir, ancak hangilerinin direkt ölüm ile ilişkili olduğu ve hangilerinin fizyolojik olarak önemli olduğu hâlâ açık değildir.

Plazma membranı, nekrozdan daha belirgin şekilde dantela gibi kıvrılır ve tomurcuklanır. Bu fenomene (maya tomurcuklarından esinlenerek) "zeiosis" denir (Şekil 1c). Bu değişikliklerin tahmin edilebileceği gibi hücreler apoptotik cisimlere bölünecektir, ancak bu yapılar ozmotik gradientlerini korumaktadır (3). Nekroza zıt olarak, apoptotik hücrelerde belirgin inflamatuvar reaksiyon ve organel şişmesi yoktur (1-3). Apoptotik hücre membranlarını, transglutaminaz gibi çapraz bağlanan enzimlerin aktivasyonu ile lizis riskine karşı güçlendirir, dayanıklılığı artar (3).

Hücrenin sitoplazma iskeletinde, belirli değişiklikler olabilir. Bu detaylı olarak açıklanamamışsa da, sitoplazma iskeletinin bozulması apoptozise yol açar. Öte yandan sitoplazma iskeletinin stabilizasyonu apoptozisi inhibe eder (3).

Apoptozise giden hücre dikkat çekecek şekilde büzülür (Şekil 1b). Fazlasıyla kondanse olan sitoplazma için en uygun açıklama hücrenin suyunu izosmotik olarak kaybettiğidir (3,9).

Bunu nükleusun birbirinden ayrı fragmanlara parçalanması izler (Şekil 1f). Nükleus apoptozisde olayların odak noktasıdır. Hücreden hücreye değişmekle birlikte, genellikle nükleus büzülür, kromatini çok yoğun bir hale gelir ve parçalar halinde biraraya toplanır. Daha sonra nüklear zarfa sıkı bir pozisyonda yerleşmiş kümeler haline dönüşür (Şekil 1d). Sonuçta birçok hücrede bir veya daha fazla sayıda yoğun küreler oluşur (3) (Şekil 1g).

Hücreler membrana bağlı apoptotik cikimlere veya veziküllere parçalanır. Sitoplazmik organeller intakt görülür ve birçok apoptotik cisim nüklear komponentier içerir. Bu yapılar, ya epitele bitişik hücreler tarafından alınır ya da hücre tarafından bırakılır. Bazen makrofajlar, apoptotik cisimlerin atılmasında rol oynar. Bu tip hücre ölümü, tek tek hücrelerde eş zamanlı olmayan bir şekilde görülür; bu durum apoptozisi aynı zamanda nekrozdan ayırır (1).

Nekroz, ya kompleman veya litik viruslar gibi ajanların plazma membranına direkt hasarı ile ya da enerji bağımlı bir takım iyon pompalarına karşarak sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum konsantrasyon gradientlerinin aşağı çekilmesi sonucunda ortaya çıkar. Gözlenen tablo, hücrenin su alması ve şişmesidir. Başlangıçtaki cevap, stimulus çekilene kadar geriye dönüşüdür. Nekrozun bu safhasındaki özellikler (2,9):

1. Dış membranlarının şişmesi ile mitokondri dan-sitesinde artış,
2. Nüklear kromatin flokulasyonu,
3. Protein sentezinde azalma.

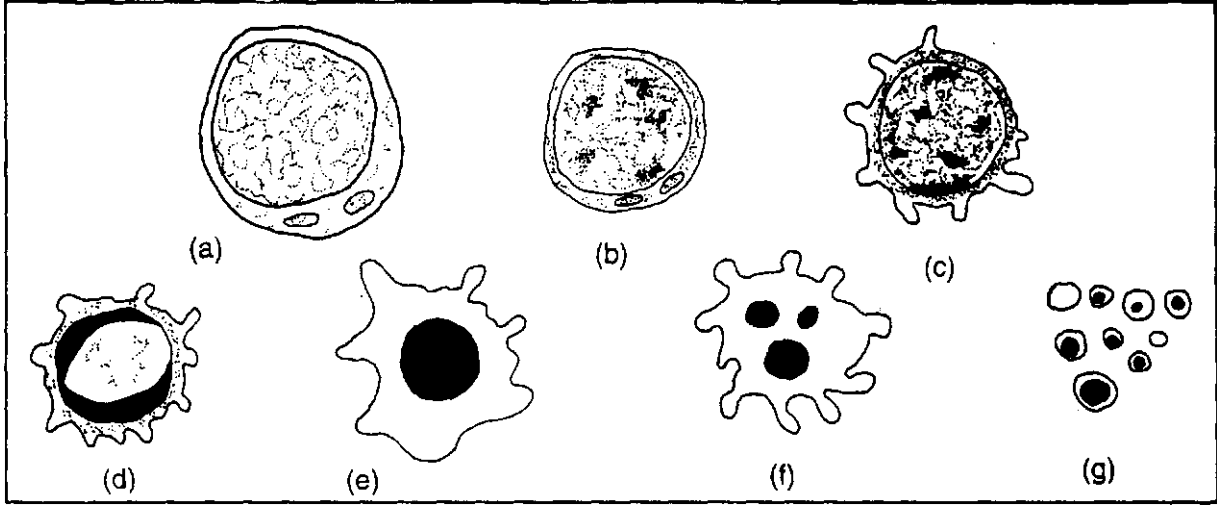
Stimulus devam ederse, sellüler yapıda sistolik kalsiyum düzeyinin artışına bağlı irreversible değişiklikler görülür:

1. Sitoplazma iskeletinde bozulma ve lizozomal enzimlerin salınması,
2. Mitokondride daha fazla şişme,
3. Fosfolipaz aktivasyonu,
4. pH'da düşme,
5. Anaerobik glikolize geçiş (2).

Sonuçta hücre ölür, plazma membranları parçalanır ve organeller gözlenir. Bu süreç sırasında nüklear yapı bozulmadan kalır. Ancak hücresel içerik ekstra sellüler alana yayılır ve inflamatuvar cevap oluşturur (2,9).

## BIYOKİMYASAL ÖZELLİKLER

Apoptozisde en iyi tanımlanan biyokimyasal olay, nüklear DNA'yı içerir. Çift iplikli DNA'nın ayrılması nükleozomlar arasındaki bağlantı bölgelerinde izlenir. DNA'nın agaroz jel elektroforezi ile 180-200 baz çifti parçaları gösterilmiştir ve tipik "merdiven örneği" olarak izlenir (1-3,9). Öte yandan nekrozda DNA parçalanması seyrek ve elektroforezden sonra bir leke olarak görü-



Şekil 1. Bir lenfositteki apoptozis evreleri (3). (JJohn Cohen; Apoptosis)

Tablo 1. Apoptozis ve nekroz arasındaki genel farklılıklar

Özellikler	Apoptozis	Nekroz
<b>Stimulus</b>	Fizyolojik	Patolojik (hasar sonucu)
<b>Ortaya çıkışı</b>	Tek tek hücrelerde	Hücre gruplarında
<b>Geriyeye dönüş</b>	Olmaz (morfolojik değişikliklerden sonra)	Olur (geri dönülmez değişikliklere kadar)
<b>Hücreler arasında ve bazal membrana olan adezyonlar</b>	Erken dönemde kaybolur.	Geç dönemde kaybolur.
<b>Sitoplazmik organeler</b>	Geç dönemde şişer.	Erken dönemde şişer.
<b>Lizozomal enzim salınımı</b>	Yoktur.	Vardır.
<b>Nükleus</b>	Parçalanır (karyoreksis)	Ortadan kaybolur (karyolizis)
<b>Nüklear kromatin</b>	Birbirine benzer yoğun kütleler halinde bir araya toplanır.	Sınırlan belirsiz bir şekilde kümelenir.
<b>DNA parçalanması</b>	İnternükleozomal	Rastgele
<b>Hücre</b>	Apoptotik cisimler oluşturur.	Şişer ve geç dönemde parçalanır.
<b>Diğer hücreler tarafından fagositozu</b>	Vardır.	Yoktur.
<b>Eksudatif inflamasyon</b>	Yoktur.	Vardır.
<b>Skar oluşumu</b>	Yoktur.	Vardır.

lür. Apoptozisin morfolojik değişiklikleri fark edildiği zaman, daima internükleozomal DNA fragmentasyonu saptanır.

Hücre ölüm supresyon mekanizmaları bilinmemektedir. Ancak çeşitli apoptotik sinyallerle oluşan bir kinaz kaskadı veya fosfataz aktivasyonu sonucu ortaya çıkabileceği düşünülmektedir (1).

Endonükleaz aktivasyon mediatörlerini aydınlatmak için yapılan çalışmalar, topoisomerez I ve II üzerine odaklanmıştır. Topoisomerez I ve II, DNA helisinde tek veya çift iplikli kırıklar oluşturarak, hücre kromatinindeki torsiyonu çözerler (2). Topoisomerez II inhibitörleri teniposide (VM-26) ve etoposide (VM-16) apop-

totik DNA fragmentasyonunu indükler (2,10). Alnemri ve Litvack, topoisomerez inhibitörü novobiocinin direkt olarak, glukokortikoidlerin indirekt olarak,  $Ca^{+2}$  a bağlı olmayan endonükleazları çalışır hale getirip, internükleozomal DNA bölgelerini açığa çıkararak lenfosit ölümünü düzenlediğini öne sürmüşlerdir (11).

Sonuçta  $Ca^{+2}$ 'un apoptozis aktivasyonu için tek mekanizma olmadığı anlaşılmıştır. Normal insan hücrelerinde DNA parçalanma örneğinin  $Ca^{+2}$  ve  $Mg^{+2}$  bağımlı endojen endonükleazlara bağlı olduğu görülmektedir.  $Zn^{+2}$  iyonları hem  $Ca^{+2}$  hem de invitro glukokortikoidlerle indüklenmiş DNA fragmentasyonunu inhibe edebilir (1,2,12).

## APOPTOZİSİN REGÜLASYONU

Apoptozis, normal embriyonik gelişim ve metamorfoz sırasında görülür. Metamorfozdaki larval organ regresyonu, interdigital alanların delesyonu, retina gelişimi ve damak füzyonu, gelişme sırasında apoptozisle hücre popülasyonlarının delesyonuna en iyi örneklerdir (1).

Nematodlardan *Caenorhabditis elegans*'ta, değişik hücre tiplerinde apoptozisi regüle eden birçok gen tanımlanmıştır (1-3,9). Embriyogenezisteki apoptozisin hormonlar ve lokal faktörlerle regüle edildiği gösterilmiştir.

Hormonlarla bağımlı dokularda, hormonların uzaklaştırılması atrofiye yol açar ve apoptozis bulunur. Prostat, adrenal korteks ve endometriumdaki apoptotik hücre ölümü hormon çekilmesine bağlı görülür.

Apoptozis, belirli lenfosit klonlarının delesyonunda önemli rol oynadığı immün sistemde de tanımlanır. Bundan başka,

-laktasyon dönemindeki meme glandlarının regresyonu,

- ovarian follikül atrezisi,
- neonatal adrenal korteks,
- megakaryositler,
- lökositlerde gözlenir (1).

Lenfositler, T, NK, K hücreler; hedef hücrelerde apoptozisi indükleyebilir (1,2,3,9). Neoplastik dokularda da apoptozis varlığı tanımlanmıştır.

Memeli yetişkin dokularında, apoptozis steroidler veya peptid hormonlarla regüle edilir. Glukokortikoid eklenmesi lenfoid hücrelerde programlanmış hücre ölümünü indüklerken, IL-2'nin uzaklaştırılması IL-2'ye bağımlı hücrelerde aynı etkiyi yapar. Eritropoetin yokluğu, kemik iliği hücrelerinde apoptozisi artırırken, androjenin çekilmesi prostatik epitelde, progesteronun yokluğu uterus epitelinde apoptozise neden olur. Transforme edici büyüme faktörü β (TGF-β) uterus epitelinin primer hücre kültürlerinde apoptozisi indüklediği gösterilmiştir (1).

İyi çalışılmış birçok apoptozis modelinde, morfolojik değişiklikler ve ölüm için yeni gen ekspresyonuna ihtiyaç olduğu gösterilmiştir. Bu incelemeler değişik bir görüşe yol açar; hücrenin kendisi sinyale cevap olarak intihar girişiminde bulunur, öldürülmemiştir. Timositler ve T hücreler karşılaştırıldığında, ölümün daha çok planlanmış olduğu gösterilir. Timositlerin çoğu glukokortikoidlere maruz kalınca ölür; öte yandan T hücreler aynı sayıda glukokortikoid reseptörleri taşımalarına rağmen dirençli kalırlar. Aynı gen yapıları taşıdıkları için, her iki hücre tipinin de **Steroid** maruz kalınca değişik gen ekspresyon yollarına sahip oldukları açıktır. Timositler bu uyarıya cevap olarak "intihar genleri" açığa çıkarırlar. Diğer taraftan T hücrelerinde böyle bir şey gözlenmez (3,9).

Apoptozisde genetik regülasyon iki şekilde görülür:

1. Apoptozise giden hücrelerde, bir takım genler açığa çıkabilir.

2. Gen modülasyonları, süreci etkiler (3).

Modülasyonun süreci etkilediği tipte; c-myc proto-onkojeni proliferasyon ve apoptozis arasındaki seçimi düzenlemede rol oynar (2). c-myc, bir hücrenin büyümesini programlar ve eğer bu büyüme faktörlerinin kaybı veya ikinci bir onkojenle engellenirse, hücre intihar yolunu seçebilir. Adenovirus geni E1A'da c-myc'e benzer bir davranış gösterir (3). E1B geni ise E1A'nın indüklediği apoptozisi bloke eder (9).

Anti onkojen p53 apoptozisla ilişkili diğer bir genidir. p53 tümör supressor geni olarak sınıflandırılır. Bu genin ekspresyonun ortadan kalkması, birçok tümörde genel bir özelliktir. Bu genin ürünleri, hücre proliferasyonunu durdurur; bunun yerine hücreyi differansiyasyon aşamasına çevirir. p53'ün gerçek rolü hasarlı hücreyi hasar onarılana kadar d fazında tutmaktır. G1 blokunu kaldırmaya çalışan hücreler, intihar yolunun aktivasyonuna neden olabilir (2,3,9,13).

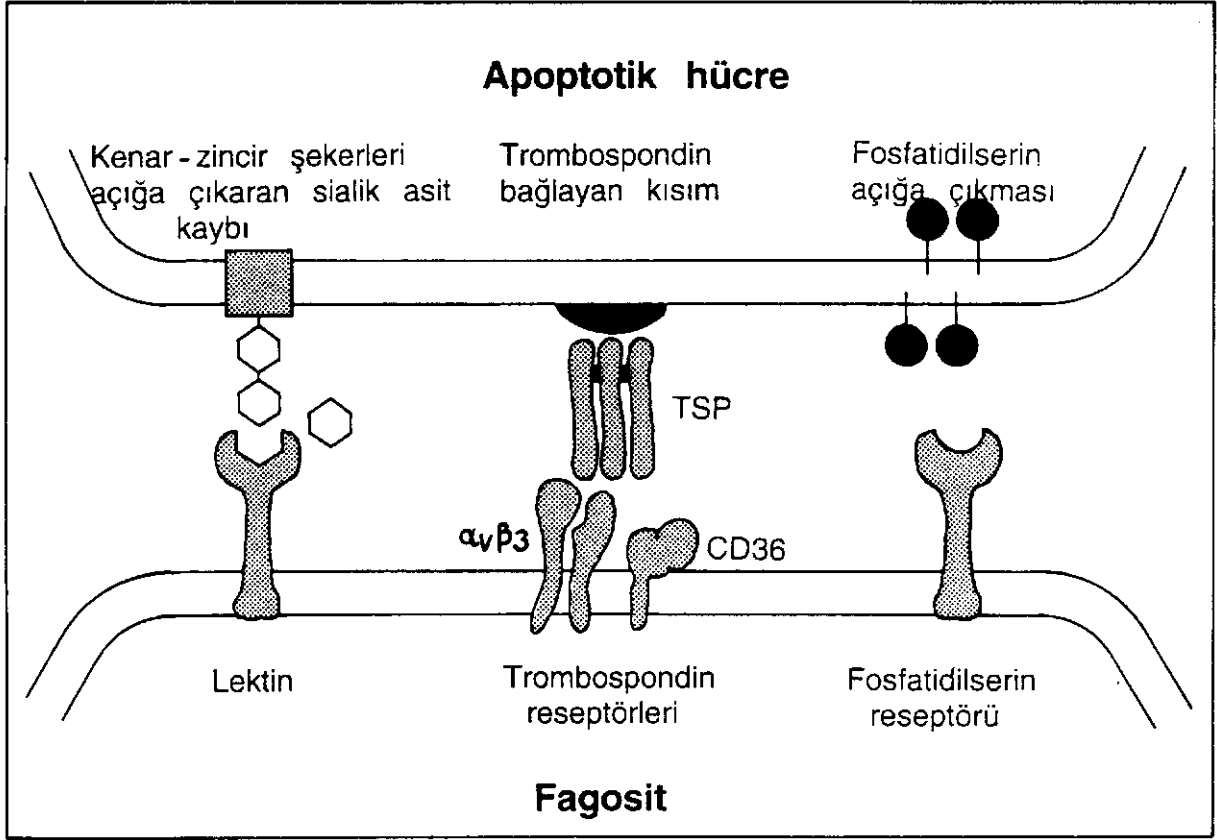
Fas Ag, TNF, NGF reseptörleri ve B hücre Ag'i CD40 ile aynı protein ailesine ait bir genidir (2,14). Fas, APO-1 diye tanımlanan hücre yüzey molekülü ile de aynı yapıdadır (3). Anti APO-1, proliferasyonu tam olarak bloke eder ve apoptotik hücre ölümünü indükler. Fas/APO-1 sistemi hem normal doku döngüsünü çalıştırırken, hem de malignite dahil birçok durumda apoptozis aktivasyonunun terapötik bir model olarak kullanılmasını mümkün kılar (2,15).

Proto-onkojen olarak tanımlanan bcl-2 genellikle insan folliküler B hücre lenfomalarında gösterilmiştir (2,3,16). Bcl-2; IL3, GM-CSF ve IL-4'e bağımlı erken hemopoetik hücre serilerinde yaşam süresini artırır. "Anti-apoptozis" genini hatırlatan özelliklere sahiptir (2,3,9). Ancak her koşulda apoptozisi önlemez; örneğin hedef hücreleri sitotoksik T hücrelerinden koruyamaz (3). Epstein-Barr virüsünün EBV-LMP1 geni bcl-2'yi indükleyerek hücre ölümünü sınırlar (9).

Apoptotik hücrelerde ortaya çıkışı artan bir takım genler vardır; ancak süreçteki rolleri tam olarak açıklanamamıştır. Ürünü clusterin ve SGP-2 olarak bilinen TRPM-2 apoptozis sırasında birçok dokuda özellikle ürogenital yolda açığa çıkmıştır (3).

RP-2 ve RP-8, timositlerde apoptozis indüksiyonundan sonra mesajları artan iki gen ailesidir. RP-8'in santral sinir sistemi ve lenfoid dokulardaki programlanmış hücre ölümünde ekspresyonları görülür (3).

Apoptozis regülasyonunda rol oynayan diğer bir mekanizmayı, oksidan ve antioksidanların sitoplazmik düzeyleri arasındaki denge oluşturur. Apoptozisi indükleyen birçok ajan ya oksidandır ya da sellüler oksidatif metabolizma stimülatörleridir. Diğer taraftan birçok apoptozis inhibitörü antioksidan etkilere sahiptir, veya



Şekil 2. Apoptozise giden hücrelerin fagositler tarafından tanınmasıyla ilgili mekanizmalar (20).

sellüler antioksidan savunma mekanizmalarını arttırmalar. Yaşam içi oksidan ve antioksidanlar arasında uygun bir denge gereklidir. Eukaryotik hücreler, oksidatif stressi genel bir apoptozis mediatoru olarak kullanıp bu tehlikeli durumdan yararlanabilirler (9,17,18,19).

### APOPTOZİSE GİDEN HÜCRELERİN FAGOSİTLER TARAFINDAN BULUNMASI

In vivo apoptozise giden hücrelerin genel fizyolojik özelliği olan süratli tanınma, lizozomal enzimlerle parçalanmadan önce lokal fagositler tarafından bozulmamış hücrenin içeri alınması ve tüm bunların komşu hücrelere zarar vermemesi veya inflamatuvar cevaplara yol açmaması dikkate alınmalıdır (20).

Bu olaylar çok önemli bir soruyu ortaya çıkarır: Bir fagosit yapısı bozulmamış komşu hücrenin yaşlanmış olduğunu ve uzaklaştırılmak için olgun hale geldiğini nasıl anlıyor? Caenorhabditis elegans'da yedi değişik genin herhangi birindeki mutasyon programlanmış olarak ölen hücrelerin içeri alınmasını bozabilir. Bu durum, birçok proteinin düzenli bir şekilde olayla ilgili olduğunu destekler. Apoptotik hücrelerin fagositler tarafından tanınması ve fagositozu, organizmayı ölen hücrelerin zararlı

içeriğine karşı koruması açısından çok önemlidir. Apoptotik hücrelerin temizlenmesindeki defektler tanımlanmayan yollarla hastalıklara yol açabilir (20).

Yaşlanmış nötrofiller, inflamasyon sahasından apoptozis yoluyla temizlenebilirler. Bu durumu hızlı tanıma ve nötrofil içeriğinin salınımı olmadan makrofajlar tarafından alınmaya yol açar. Apoptotik hücreleri alan makrofajlar eikosanoid ve sitokinler gibi flojistik ajanları salgılamazlar; içeri alınan hücrelerde bu cevabın yokluğu gözlenir. Öte yandan makrofaj Fc reseptörleri tarafından alınacak opsonize apoptotik hücreler cevap olarak, tromboksan salınımını indüklerler. Yine de eğer apoptotik hücreler makrofajlar tarafından alınmazsa şişer parçalanır ve içeriklerini salgırlar. Muhtemelen içeri alınmayan apoptotik lenfositlerin parçalanması sonuçta SLE'lu hastalarda görülen dolaşan nükleozomal DNA'nın kaynağı olabilir (20,21).

Apoptotik hücreleri alan fagositler, bir veya birden çok tanıma mekanizması oluştururlar (2,20) (Şekil 2).

Apoptotik nötrofillerin tanınmasındaki mekanizmalar, makrofaj-yaşlanmış eritrosit, makrofaj-apoptotik timosit arasındaki ilişkilere dayanarak araştırılmıştır. Makrofaj ve yaşlanmış eritrositler arasındaki ilişki, makrofaj reseptörlerinin opsoninlere, IgFc, kompleman

komponentleri **C3b**'ye bağlanması ve eritrositler üzerindeki proteinlerin glikolizasyon son ürünlerine bağlıdır. Makrofaj ve apoptotik timosit ilişkisi, N-asetil glukozamin gibi monosakkaritlerle inhibe olan bir şeker lektin mekanizması içerir. Makrofajlar ve yaşlanmış nötrofiller arasındaki ilişki, opsoninler için reseptörleri, glikolizasyon son ürünlerini veya N-asetil glukozamine spesifik lektinleri içermez. Burada açıklanan mekanizma, tanınmanın katyonik monosakkaritler ve bazik aminoasitlerin pH'ya bağımlı inhibisyonuna dayandığıdır (20).

Kullanılan adezyon molekülleri ile ilgili iki olasılık vardır. Birincisi; integrin süpergen ailesinin üyelerine bağlanan integrin bağ inhibitörleri (örneğin; fibrinojenin, trombosit integrin GIIb-GIIa'ya bağlanması) makrofaj ve apoptotik nötrofil ilişkisine karışabilir.

Makrofaj avP3 vitronektin reseptörlerinin ortaya çıkması apoptotik nötrofillerin ve lenfositlerin fagositozu için gereklidir. Ancak kullanılan bağ hala açıklanamamıştır. İkinci olarak adeziv glikoprotein trombospondin tanımlanmıştır ve bunun trombospondin reseptör CD36 ve/veya makrofaj üzerindeki **avp3** ve apoptotik nötrofil üzerindeki bilinmeyen küçük parçalar arasında bağlayıcı bir molekül olarak davrandığı düşünülmektedir. Makrofajların trombospondin sekresyonunun regülasyonu aynı zamanda, makrofajların apoptotik hücreleri içeri almalarını da regüle eder (2,20,21).

Makrofajların lenfositleri tanınması ile ilgili çalışmalar, makrofajların lenfositlerin yüzeyinde apoptozis sırasında açığa çıkan fosfatidil serini tanıdıklarını göstermiştir (2,20).

Makrofajların apoptotik hücreleri tanımak için kullandığı başka sistemler de vardır. Ancak bunlar bugün için tam olarak açıklığa kavuşmamıştır.

## İMMÜN SİSTEM VE HEMOPOEZ KONTROLÜNDE APOPTOZİS

Apoptozis doku gelişim dönemlerinde sellüler dengeyi koruma, hücre proliferasyonu sırasında hücre sayılarını kontrol etmede önemlidir. Çok geçerli olan bir teoriye göre; hücreler aksi yönde uyarılmadıkça kalıtsal olarak sürekli ölürlür. Diğer bir deyişle, çevrelerindeki diğer hücreler tarafından proliferasyonları sinyallerle tetiklenir. Böylece hücrenin yaşamını sürdürmek için, intrinsek intihar yolunu bloke edecek başka bir sinyale ihtiyacı vardır, immün sistem ve hemopoez kontrolü bu teoriyle ilgili birçok örnek içerir (2).

### Stem Hücreler

Kemik iliğindeki stem hücreler, diğer hücrelerle fiziksel ilişkiler, fibronektin gibi ekstraseliüler matriks molekülleri ile kontakt, büyüme stimülatörü ve inhibitörlere maruz kalma gibi birçok uyarıyla karşılaşır. Bu stimülüsler, self yenilenmesini, stem hücrelerin differansiyasyonunu ve kanda matür hücreler haline gelmelerini kontrol eder. Klonajenik deney sistemleri kullanılarak 18 büyüme faktörü izole edilmiştir. Bunların ba-

zıları proliferatif (örneğin, GM-CSF, -CSF, IL-6) bir kısmı ise inhibitör rol oynar (2).

Stimülatör büyüme faktörleri, hemopoetik stem hücre proliferasyonu, differansiyasyonu ve yaşamını sürdürmesi için gereklidir. Ancak bu büyüme faktörlerinin ortamdaki uzaklaştırılması, stem hücrelerin apoptozis ve ölümüne yol açar (2).

### T Lenfositler

Timositler bir seçme sürecine girer ve sadece self antijeni nispeten düşük affinité ile tanıyan hücrelerin olgun CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> lenfositler haline dönüşmesi sağlanır. Buna pozitif seleksiyon denir.

Self antijeni yüksek affinité ile tanıyan timositler, otoreaktif lenfositlere olgunlaşabilir, bu nedenle ortadan kaldırılmalıdırlar. Bu negatif seleksiyondur ve bu hücrelerde apoptozis indüksiyonu ile olur (2,22).

Pozitif ve negatif seleksiyon mekanizmaları timositler ve timik stromal hücreler arasındaki etkileşimleri içerir. Antijen sunucu hücreler apoptozis indüksiyonunu uyarır ve epitelyal hücreler pozitif seleksiyonu uyarır.

### B Lenfositler

B hücreler de, T hücreler gibi antijen stimülasyonuna differansiyasyon safhasına bağlı olarak değişik şekilde cevap verirler. Pre B hücreler V,D,J genlerini içeren hafif zincir lokuslarını, ağır zincir lokuslarıyla bağlantılı olarak az bir kısım hücrede Ig üretmek üzere düzenler. Başarısız düzenlemeler muhtemelen ölümle programlanacaktır. Başarılı olan pre B hücreleri, yüzey IgD açığa çıkartmadan önce IgM açığa çıkartacaktır. Pre B hücreleri, IgM açığa çıkarttığı safhada antijen ile karşılaşır başarılsız olurlar. Ancak bu safhada yaşayan hücreler antijene proliferasyon ve klonal gelişme ile cevap verirler. Bu yine otoreaktif hücrelerin ortadan kaldırılması için bir metodur (2).

### Eozinofiller, Nötrofiller ve Monositler

Eozinofiller, nötrofiller ve monositler, inflamatuvar ceapların başlaması ve kontrolünde rol oynarlar. İn vitro kanıtlar, inflamasyondaki rollerinin apoptozisin sitokin kontrolü ile regüle edilebileceğini göstermektedir (2).

Gerekli oldukları zaman apoptozis bloke edilmekte, gerekmedikleri zaman apoptozis ile ortadan kaldırılmaktadırlar. Örneğin, monositler uygun şekilde stimule edilmezlerse apoptozise giderler.

Enflamatuvar sitokinler; IL1 p, TNFa, IFNy, GM-CSF monositlerde programlanmış hücre ölümünü bloke eder. Kompleman komponentleri, Csa, monosit kemotaktik protein 1, growth factor, TGFp, IL-2, IL-4, IL-6'nın apoptozisi engellemede rolleri yoktur (2,23). IL-1p, TNFa, GM-CSF'ün aktive monositler tarafından da üretilmesi, inflamatuvar cevap sırasında monosit yaşam kontrolünün hem otokrin hem de parakrin olduğunu gösterir (24).

Eozinofillerde IL-5'in apoptozisi geciktirdiği gözlenmiştir (25).

Aynı şekilde olgun nötrofiller de apoptotik olarak ölmekte ve fagositler tarafından ortadan kaldırılmaktadır. İn vitro olarak LPS, Cs. gibi proinflatuar maddelerin apoptozisi geciktirdiği gösterilmiştir (26).

### **Sitotoksik Lenfositlerin Apoptozisi İndüklemesi**

CTL ve NK hücrelerin, hedef hücrelerde hedefe bağlanarak, perforin isimli delik oluşturan bir protein ile; hedef hücre ve efektör arasındaki intrasellüler boşluğa serin esterazlar salgılayarak hedef hücrelerin lizisini indükledikleri düşünülmektedir. Perforin, hedef hücre membranına girerek ozmotik lizisi indükler. Ancak CTL hedef hücre öldürülmesi ile ilgili çalışmalar, hedef hücrelerin apoptotik olarak öldüğünü göstermektedir. DNA 5 dakikada fragmanite olmakla, bunun için  $Ca^{+2}$ 'a ihtiyaç göstermekte ve  $Zn^{+2}$  ile inhibe olmaktadır. Apoptozise olan bu benzerlik, CTL ve NK hücrelerinin, hedef hücrelerde endojen programlanmış hücre ölüm yolunu indüklediğini öne sürer (2,22,27,28).

### **SONUÇLAR**

Apoptozis ve onun kontrolüyle ilişkili çalışmalar, immün sistem ile ilgili hastalıkların anlaşılmasında çok önemlidir.

Şimdi, AIDS'deki T hücre fonksiyon kaybının CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> lenfositlerde, gp120 HIV zarf proteini ile apoptozis induksiyonu sonucu olduğu düşünülmektedir. T hücrelerde süregelen apoptozisin AIDS patogenezi ile ilgili olduğu sanılmaktadır (2,3,9,29).

Ameisen tarafından öne sürülen AIDS'da CD4<sup>+</sup> hücre kaybının doğru olduğu bulunursa, bu model ile şu düşünülebilir: CD4<sup>+</sup> hücrelerin gp120 kompleksi ve antikorlar çapraz bağlanması enfekte olmayan CD4<sup>+</sup> hücre fizyolojisini değiştirebilir; böylece antijen için olan reseptör ile aktivasyon yerine apoptozis tetiklenir (29).

Apoptozis, akut ve kronik düzensiz hücre ölümüyle beraber birçok hastalığa yol açmaktadır. Düzensiz apoptozisin yer aldığı patofizyolojik durumlar aşağıda gösterilmiştir (30):

#### **Hastalıklar**

##### **Malign ve pre-malign durumlar**

Solid tümörler, B hücre lenfomaları, kronik lenfositik lösemi, prostat hipertrofisi, preneoplastik karaciğer odakları, kemoterapiye direnç.

##### **Nörolojik bozukluklar**

Felç, Alzheimer hastalığı, Ataxia telangiectasia.

##### **Kalp hastalıkları**

İskemik kardiak hasar, kemoterapiyle indüklenen miyokardial baskılanma.

##### **İmmün sistem bozuklukları**

AİDS, tip 1 diabetes mellitus, lupus eritematozus, Sjogren sendromu, glomerülonefritis.

##### **İntestinal bozukluklar**

Dizanteri, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, radyasyon ve HIV enfeksiyonu ile oluşan diare.

##### **Böbrek hastalıkları**

Polikistik böbrek hastalığı, anemi/eritropoezis.

##### **Tedavide apoptozis**

—Apoptozisi inhibe eden bir ilaç, hücre ölümünü önlemede yararlıdır. Diğer tedavi çeşitlerine enfeksiyonu temizlemek için zaman verir.

—Kanserde, malign hücrelerde apoptozisi stimüle eden bir yol terapötik açıdan değer taşıyabilir (3).

—Apoptozisi tetikleyen antikorlar, örneğin APO-1 (3,31),

—Apoptozisi indükleyen bağlar taşıyan immunotoksinler de potansiyel tedavi ajanları olarak düşünülebilir (3).

Apoptozis modülasyonu için hedef olarak çalışan bazı anahtar moleküller şunlardır (30):

##### **Hücre yüzey reseptörleri ve bağları**

Fas/APO-1 (CD95), tümör nekrozis faktör reseptörü, nörotrofin reseptörü (p75), CD40, eritropoetin (EPO) reseptörü.

##### **Hücre siklusunda bulunan gen ürünleri**

p53, Rb, WAF1, Cip1.

##### **Diğer intrasellüler apoptozis modülatörleri**

Bcl-2 ve homologları.

##### **Apoptozisde yer alan proteazlar**

Kalpainler, interlökin-1 B-konvertaz.

##### **Diğer nedenler**

Oksidatif mekanizmalar, hücre yüzey proteazları/proteaz inhibitörleri, hücre adezyon molekülleri klusterin (SGP-2), transglutaminazlar.

Günümüzdeki yaklaşımlar, hücre ölümünün bloku üzerinde odaklanmıştır. Örneğin; septik şokta TNF aktivitesinin monoklonal antikorlarla nötralize edilmesi (30). Birçok nöronal hücre tiplerinin programlanmış hücre ölümünden korunması ekstrasellüler nötrofinlerin uygulanması ile mümkün olabilir.

Fas/APO-1'in, kanser, hepatitis, AİDS, otoimmün bozukluklar gibi birçok hastalıkta yer aldığı gözlenmektedir. Fas/APO-1'in spesifik monoklonal antikorlarla oluşan mekanizmalar yoluyla hücre yüzey ekspresyonunun regülasyonu veya yeni bulunan Fas bağı kontrolü yoluyla uygulanması, klinikte apoptozis modülasyonunda önemlidir (30).

Hücre yüzey proteaz/proteaz inhibitör ilişkileri ve hücre adezyon olaylarının apoptozis kontrolündeki roller son zamanlarda merak konusu olmuştur.

Sonuç olarak, apoptozis organizmada normal dengeyi sağlamakta önemli bir hücre ölüm şeklidir. Apoptozisin terapötik öneminin araştırılması ve ilgili mekanizmaların anlaşılmasının birçok hastalığa ışık tutacağına inanılmaktadır (1-4).

## KAYNAKLAR

1. Gerschenson LE, Rotello RJ. Apoptosis: a different type of cell death. *Faseb J* 1992; 6:2450-55.
2. Allen PD, Bustin SA, Newland AC. The role of apoptosis (programmed cell death) in haemopoiesis and the immune system. *Blood Reviews* 1993; 7:63-73.
3. John Cohen J. Apoptosis. *Immunology Today* 1993; 14:126-30.
4. Glucksmann A. Cell death in normal vertebrate ontogeny. *Biol Rev* 1981; 26:59-86.
5. Saunders JW. Death in embryonic systems. *Science* 1966; 154:604-12.
6. Kerr JFR. A histochemical study of hypertrophy and ischaemic injury of rat liver with special reference to changes in lysosomes. *J Pathol Bacteriol* 1965; 90:419-35.
7. Kerr JFR. Shrinkage necrosis: a distinct mode of cellular death. *J Pathol* 1971; 105:13-20.
8. Kerr JFR, Searle J. A suggested explanation for the paradoxically slow growth rate of basal cell carcinomas that contain numerous mitotic figure. *J Pathol* 1972; 107:41-4.
9. Lawrence M Schwartz, Barbara A Osborne. Programmed cell death, apoptosis and killer genes. *Immunology Today* 1993;14:582-90.
10. Gerald M Cohen, Xiao-Ming Sun, Roger T Snowden, Michael G Ormerod, David Dinsdale. Identification of a transitional preapoptotic population of thymocytes. *J Immunol* 1993; 151:566-74.
11. Alnemri ES, Litwack G. Activation of internucleosomal DNA cleavage in human GEM lymphocytes by glucocorticoid and novobiocin. *J Biol Chem* 1990; 265:17323-333.
12. Dwain L Thiele, Peter E Lipsky. Apoptosis is induced in cells with cytolytic potential by L-Leucyl-L-Leucine Methyl Ester. *J Immunol* 1992; 148:3950-57.
13. Scott W Lowe, Earlene M Schmitt, Sallie W Smith, Barbara A Osborne, Tyler Jacks. p53 is required for radiation-induced apoptosis in mouse thymocytes. *Nature* 1993; 362:847-9.
14. Naoto Itoh, Yoshihide Tsujimoto, Shigekazu Nagata. Effect of bcl-2 on fas antigen-mediated cell death. *J Immunol* 1993;151:621-7.
15. Bernhard C Trauth, Christiane Klas, Anke M J Peters, Siegfried Mazku, Peter Möller, Werner Falk, Klaus-Michael Debatin, Peter H Kramer. Monoclonal antibody-mediated tumor regression by induction of apoptosis. *Science* 1989; 245:301-5.
16. Michael D Jacobson, Julla F Burne, Michael P King, Toshiyuki Miyashita, John C Reed, Martin C Raff. Bcl-2 blocks apoptosis in cells lacking mitochondrial DNA. *Nature* 1993; 361:365-8.
17. Thomas M Buttke, Paul A Sandstrom. Oxidative stress as a mediator of apoptosis. *Immunology Today* 1994; 15:7-10.
18. Jorge E Albina, Shijun Cui, Romeo B Mateo, Jonathan S Reichner. Nitric oxide-mediated apoptosis in murine macrophages. *J Immunol* 1993; 150:5080-85.
19. Laszlo G Radvanyi, Gordon B Mills, Richard G Miller. Religation of the T cell receptor after primary activation of mature T cells inhibits proliferation and induces apoptotic cell death. *J Immunol* 1993; 150:5704-15.
20. John Savill, Valerie Fadok, Peter Henson, Chris Haslett. Phagocyte recognition of cells undergoing apoptosis. *Immunology Today* 1993; 14:131-6.
21. Molra K B Whyte, Laura C Meagher, John MacDermot, Christopher Haslett. Impairment of function in aging neutrophils is associated with apoptosis. *J Immunol* 1993; 150:5124-34.
22. Dieter Kabelitz, Thomas Pohl, Klaus Pechhold. Activation induced cell death (apoptosis) of mature peripheral T lymphocytes. *Immunology Today* 1993; 14:338-9.
23. Dennis F Mangan, Baldwin Robertson, Sharon M Wahl. IL-4 enhances programmed cell death (apoptosis) in stimulated human monocytes. *J Immunol* 1992; 148:1812-16.
24. Mangan DF, Wahl SM. Differential regulation of human monocyte programmed cell death (apoptosis) by chemotactic factors and proinflammatory cytokines. *J Immunol* 1991; 147:3408-12.
25. Stern M, Meagher L, Savill J, Haslett C. Apoptosis in human eosinophil leads to phagocytosis by macrophages and is modulated by IL-5. *J Immunol* 1992; 148:3543-49.
26. Lec A, Young SK, Hemon PM, Haslett C. Modulation of neutrophil programmed cell death by inflammatory mediators. *FASEB J* 1989; 3:1344.
27. Suhrbier A, Burrows SR, Ferman A, Lavin MF, Baxter GD, Moss DJ. Peptide epitope induced apoptosis of human cytotoxic T lymphocytes. *J Immunol* 1989; 150:2169-78.
28. Rahelu M, Williams GT, Kumararatne DS, Eaton GC, Gaston JSH. Human CD4<sup>+</sup> cytolytic T cells kill antigen-pulsed target T cells by induction of apoptosis. *J Immunol* 1989; 150:4856-66.
29. Jean Claude Amelsen. Programmed cell death and AIDS: from hypothesis to experiment. *Immunology Today* 1992; 13:388-91.
30. Phillip J Barr, L David Tornei. Apoptosis and its role in human disease. *Bio/Technology* 1994; 12:487-93.
31. Linde Meyaard, Hanneke Schultemaker, Frank Miedema. T-cell dysfunction in HIV infection: anergy due to defective antigen-presenting cell function? *Immunology Today* 1993; 14:161-4.