

Apoptoz

APOPTOSIS

Saime SARIOĞLU*, Şebnem ATAMAN**

* Arş.Gör.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD,

** Doç.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD, ANKARA

Özet

Apoptoz, hücrelerin kendi kendilerini yok ettikleri, programlı, aktif RNA ya da protein sentezi ve enerjiye gereksinim gösteren bir ölüm formudur. Ekstrasellüler çevreden etkilenen bir genetik ve biyokimyasal olaylar dizisidir. Apoptozun yer aldığı fizyolojik ve patolojik olaylar bulunmaktadır. Hücre ölümüne neden olan iki önemli mekanizma vardır. Bunlar nekroz ve apoptozdur. Apoptozun mekanizması; apoptoz uyaranları, apoptoz regülatörleri ve apoptoz efektörleridir. Kaspaslar hedef proteinlerini belirli aspartat artıklarında parçalayan ve aktif bölgelerinde sistein içeren proteazlardır ve tüm hücrelerde apoptozda ortakdır. Apoptozun yer aldığı, anormal yüksek ve anormal düşük olduğu hastalıklar vardır. Çeşitli romatizmal hastalıkların patogenezi ve tedavisinde apoptoz rol oynamaktadır. Otoimmün romatizmal hastalıkların tedavisinde sık kullanılan ilaçların apoptoz mekanizmaları üzerinde değişik etkileri mevcuttur.

Anahtar Kelimeler: Apoptoz, Kaspas, Nekroz

T Klin FTR 2003, 3:37-44

Summary

Apoptosis is a programmed cell death which requires energy, active RNA or protein synthesis. It consists of genetic and biochemical events, affected by extracellular compartment. Apoptosis takes part both in physiologic and pathologic events. There are two important mechanisms that cause the cell death. These are necrosis and apoptosis. The mechanism of apoptosis includes apoptosis stimulants, apoptosis regulators and apoptosis effectors. Caspases are common in apoptosis in all of the cells. Caspases are cysteine-containing proteases that have an unusual substrate specificity for peptidyl sequences with a P₁ aspartate residue. There is an increase or decrease in the rate of apoptosis in some diseases. Apoptosis is important in the pathogenesis and treatment of various rheumatological diseases. The drugs, used in autoimmune rheumatological diseases, have effects on apoptotic mechanisms.

Key Words: Apoptosis, Caspas, Necrosis

T Klin J PM&R 2003, 3:37-44

Son 30 yılda hücre ölümünün hücre dışı mekanizmalar olmadan histopatoloji, genetik, moleküler biyoloji ve fizyolojideki gelişmeler sayesinde, yine hücrenin kendi genetik potansiyelini kullanarak, kendi kendine de gerçekleşebileceği anlaşılmıştır. 1972 yılında Kerr ve arkadaşları hücre büzülmesini nükleolar büzülme ve hücre şişmesi ile karakterize, aktif kalıtsal kontrollü bir fenomen şeklindeki hücre ölümü olarak tanımlayıp ‘‘apoptoz’’ adını vermişlerdir (1,2). Apoptoz hücrelerin kendi kendilerini yok ettikleri, programlı, aktif RNA ya da protein sentezi ve enerjiye gereksinim gösteren bir ölüm formudur. Dış çevreden etkilenen bir genetik ve biyokimyasal olaylar dizisidir (3,4). Apoptoz aslında Latince’de

‘‘apoptoz’’ adını vermişlerdir (1). ağaçların yapraklarının dökülmesini tanımlamak için kullanılan bir kelimedir. Apo: ayrı ptozis: düşen anlamındadır (1).

Sonradan yapılan araştırmalar ışığında bugün artık bilindiği gibi apoptoz birçok fizyolojik, biyolojik olayda önemli rol oynayan bir işlemdir. İstenmeyen hücrelerin ortadan kaldırılmasında, embriyogenezis ve farklılaşmasında, immün sistemin gelişimi, inflamasyonun çözülmesi, organ sistemlerinde hücre sayısının kontrolü, hasarlı ve zararlı hücrelerin ortadan kaldırılmasında, organizmanın iç dengesinin devamlılığında ve daha birçok durumda apoptoz önem kazanmaktadır (2,4). Bu sürecin bozulması organ işlevlerinde bozulma ve neoplaziye neden olur (4).

Apoptozun ilk tarif edildiği nematodlarda (*Caenorhabditis elegans*) bu işlem 4 ayrı fazda gerçekleşmektedir: başlangıç (initiation), efektör, yıkım (degradation) ve reseptör aracılı fagositoz (receptor mediated phagocytosis of apoptotic bodies by phagocytosis). Memelilerde ise apoptoz basamakları, birçok düzenleyici biyokimyasal, moleküler ve genetik faktörün var olması nedeniyle nematodlara göre oldukça karmaşıktır (2,5).

Hücre ölümüne neden olan iki önemli mekanizma vardır. Bunlar nekroz (patolojik) ve apoptoz (fizyolojik-patolojik)'dur. Apoptoz, daha önce oldukça iyi bilinen hücre ölümü tipi olan nekroza farklı bir mekanizma ile gider. Bu iki hücre ölümü tipinin başlatıcı nedenleri bile farklıdır. Apoptozda neden hücre içinde ATP azalmasına neden olmayan fizyolojik ya da patolojik bir uyarı olurken, nekroz için ağır hipoksi, toksinler ya da ATP eksikliğine neden olan faktörler başlıca nedenleri oluşturur. Aslında apoptozun kendisi enerji gerektiren bir mekanizmadır. Ama bilindiği gibi nekroz için fazladan enerji harcanmasına gerek yoktur. Diğer biyokimyasal yapılara bakılacak olursa nekroza protein ve DNA yıkımının rastgele olduğu, hücre içi maddelerin nonspesifik hidrolize uğradığı görülür. Ancak apoptozda DNA yıkımı endonükleaz aracılı internükleozomal kromatin kırılmaları şeklindedir ve jel elektroforezde izlendiğinde "laddering" denen merdiven manzarasını oluşturur. Ölen hücrelerin histolojileri karşılaştırılırsa apoptozun dokuda tek tek hücre ölümleri ile gittiği, nekroza ise hücrelerin doku içinde gruplar şeklinde öldüğü görülür. Nekroza hücre şişmesi, nükleus bütünlüğünün bozulması, organellerin hasarı ön planda iken, apoptozda kromatin yoğunlaşması, apoptotik cisimciklerin oluşarak hücreden tomurcuklaşması (blebbing) gözlenir. Apoptozda organeller sağlamdır. Nekrotik hücrede ATP azalmış, mitokondri şişmiş ve parçalanmışken apoptotik hücrede mitokondri şişer, sitokrom c açığa çıkar, hücre zarında normalde iç yüzeyde bulunan fosfatidil serin (PS) membranın dış yüzeyine çıkar. Bu değişiklik apoptozda ilk ortaya çıkan değişikliktir. Nekrotik hücrede hücre zarı bütünlüğü bozulur, geçirgenlik artar (1,3,6).

Apoptozun düzenlenmesinde genetik faktörler ve apoptoz düzenleyicisi rolü olan dış uyarılar önemlidir. Genetik olarak başlıca 2 grup çalışır: 1) Protoonkogenler (örn. Bcl-2 ailesi); 2) Tümör suprese edici genler (örn. P 53 , c- myc). Dış uyarılar içinde IL-4, IL-2, IL-10 gibi sitokinler bulunur (2).

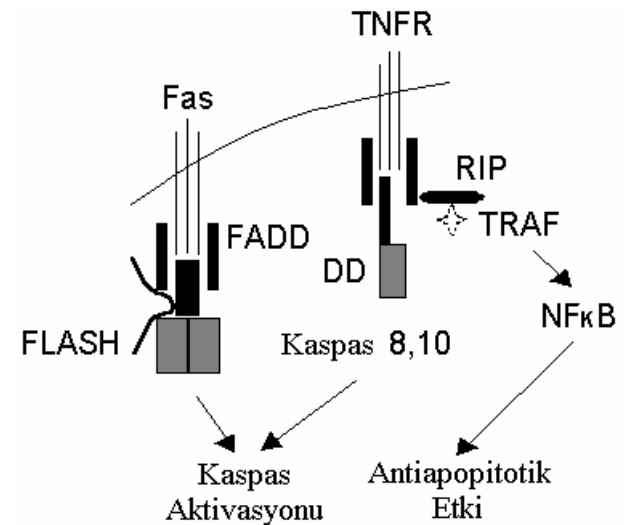
Apoptozun mekanizması: 1) apoptoz uyarıları 2) apoptoz regülatörleri 3) apoptoz efektörleridir (1).

Apoptoz uyarıları: hücre yüzey reseptörleri, sitotoksik T lenfositleri, DNA hasarı, stres, Ca^{++} dengesindeki değişikliklerdir.

Yüzey reseptörleri; TNF reseptör ailesidir. Bu ailenin 3 üyesi olan Fas, TNF-R1 ve P75 apoptozla ilişkilidir. Fas, TNF reseptörü ile ilişkili bir yüzey reseptörüdür. Apoptozu neden olan c-terminal uca yakın yerleşen 70'den fazla aminoasitten oluşan bir bölgedir. Bu bölge hem Fas hem de TNF-R1 de korunmakta ve ölüm alanı "death domain" olarak adlandırılmaktadır (1,7,8).

Hücre ölümünün başlaması başlıca 6 önemli DR (ölüm reseptörü) aracılığı ile gerçekleşir. Bunlar Fas (CD95), TNFR-1, DR3 (TRAMP/WSL-1/APO 3/LARD), DR4 (TRAIL-R1), DR5 (APO2/TRAIL-R2/TRICK/KILLER), DR6'dır. DR'ler TNF reseptör ailesindedir (1).

En kolay anlaşılabilir mekanizma Fas-FasL (Fas ligandı) mekanizmasıdır (Şekil 1). Fas ve



Şekil 1. Fas-FasL mekanizması ve TNFR-1 sinyali

FasL bağlandığında reseptör uyarılması, hücre içi ölüm alanlarında toplanma sonucu adaptör protein FADD (Fas ölüm alanı) aracılığı ile proteolitik kaspas kaskadı kaspas 8'den başlayarak aktive olur (2). Fas ligandın Fas'a bağlanması reseptör kilitlenmesine ve hücre içi adaptör moleküllerin birikimine yol açar. Başlangıçta, Fas toplanması adaptör protein olan FADD/MORT1'in Fas'ın ölüm kısmına alınımını uyarır (9). Uyarımlar sonucu prokaspas 8 ve 10b'nin aktive Fas kompleksine dönüşümü otokatalitik uyarıma ve proenzimlerin aktive proteazlara dönüşümüne yol açar; bu proenzimler salınır ve programlı hücre ölümüne yol açan bir proteolitik kaskadı başlatır (10). Bazı hücrelerde proapoptotik molekül Bid uyarımı ile birlikte kaspas 8 uyarımı da olur. Bu da mitokondrial kaskadı aktive eder (tip2 yol) (kaspas 8 ölüm alanı içermektedir ve proteaz katalitik aktivitesi vardır (1).

TNFR-1 sinyali ise adaptör olarak başka bir proteini (TRADD:TNF ile ilgili ölüm alanı) kullanır (Şekil 1). TRADD, FADD'ı aktive eder. Yine kaspas sistemi kaspas 8'den başlayarak aktive olur. Ancak ilginç olarak TRADD NFκB'yi (nükleer faktör kappa beta) de aktive eder. NFκB'nin antiapoptotik etkileri mevcuttur. NFκB, Fas aracılı apoptoza etki etmez (1,2,11).

Kasparlar tüm hücrelerde apoptozda ortaktırlar. Bunlar hedef proteinlerini belirli aspartat artıklarından parçalayan ve aktif bölgelerinde sistein içeren proteazlardır. Kasparlar bir büyük bir küçük subünitten oluşan aminoterminal ölüm alanına sahiptirler. Aktif bölüm sistein artığı, enzimin büyük subünitinde pentapeptid içindedir. Substrat spesifitelerinin çoğu küçük subunit tarafından belirlenmektedir. Kasparlar hücrede sitoplazmada büyük, inaktif prekürsörler olarak bulunurlar (prokasparlar) ve genellikle bir kaspas diğeri tarafından parçalanarak aktifleşir. Böylece proteolitik bir kaskat oluştururlar (1).

Reseptör aracılı apoptoz dışında bir de özel lenfositlerin (sitotoksik T, NK hücreler) viral enfeksiyonu olan hücrelere bağlanarak yüzeylerinde ufak delikler açarak ya da hedef hücre ile temasta perforin ve granzim (serin proteazlar) salarak oluşturdukları bir apoptoz mekanizması daha vardır.

Bu yolda serin proteaz ve diğeri litik komponentleri içeren granüllerin salınımı yolu ile hedef hücreleri öldürür. Perforin target hücre membranında delikler açar. Granüllerdeki serin proteazlara granzim denir. En hızlı ve önemli granzim Granzim B 'dir. Perforinlerin açtığı deliklerden granzimler geçer ve kaspas 3 ve diğeri aktif ederek ve Bid aracılı sitokrom C salınımını sağlayarak hücrede apoptozu başlatırlar (1,2).

Apoptozisin intrasellüler inhibitörleri; antiapoptotik proteinlerin ayrı bir ailesidir. IAP'lar (Inhibitors of apoptosis), antiapoptotik etkilerini direkt kaspalara bağlanarak, kaspas inhibisyonu ile gösteren proteinlerdir. NIAP (nöronal apoptozis inhibitör protein), c-IAP-1, c-IAP-2, XIAP ve survivin'den oluşurlar. Spinal kaslar distrofiye NIAP mutasyonu gösterilmiştir. Herpes ve poxviruslerin de IAP benzeri proteinler yaparak enfekte ettikleri hücreyi apoptozdan korudukları görülmüştür. IAP, Fas, TNF-alfa, UV, radyasyon gibi bir takım uyarılarla indüklenen apoptozu bloke eder (1).

Apoptotik hücrenin uzaklaştırılması

Sadece immün sistem içinde, bir günde 10^8 den fazla hücre uzaklaştırılır. Bu apoptotik hücreler timus ve kemik iliği gibi santral lenfoid organlarda değişik sayılarda üretilir. Lenfositlerin ve myeloid hücrelerin göreceli olarak kısa ömürleri ve germinal merkezlerde yüksek afiniteli B hücrelerin sekonder seleksiyonu nedeniyle apoptotik hücrelerin önemli bir kısmı periferik immün sistemde üretilir. Özel seleksiyon bölgelerinde (timus, kemik iliği ve lenfoid follikül gibi) ölen hücreleri hızla uzaklaştıran etkin fagositler vardır (1,12).

Apoptotik mekanizmaları kısaca ve temel olarak gözden geçirdikten sonra bu hücresel yolların aydınlatılmasının bilinen hastalıkların patofizyolojisinde ve tedavisindeki önemi üzerinde durabiliriz.

Organizma hasarlanmış normal olmayan hücreleri yok etmek zorundadır. Bunu apoptozla yapar. Bu işlemin bozulması otoimmün hastalıkların görülmesine yol açar. İnsan otoimmün hastalıkları çeşitli hücre tiplerinin oluşumunda ve yıkımında

dengeşizlik nedeniyle olmaktadır. Örneğın SLEde lenfositler, RA'de sinovyal hücreler gibi (13).

Anormal yüksek apopitoz:

- hepatosit: kronik aktif hepatit
- alveolar epitelyal hücre: pulmoner alveolitis

Anormal düşük apopitoz:

- sinovyal hücreler: Romatoid artrit (RA)
- T ve B hücreler: Sistemik Lupus Eritematozus (SLE)
- Sindirim epitelyal, sinovyal hücreler: Reaktif artrit
- Sindirim epitelyal, sinovyal hücreler: Kron hastalığı ve ülseratif kolit
- Fibroblast: Skleroderma

Apopitozun regülasyonu, romatik hastalıkların nedeni ve tedavisi ile yakından ilişkilidir. Her bir hastalıkta neden sadece seçilmiş yalnız bir antijen grubuna karşı immün yanıt oluştuğu tam olarak açıklanamamıştır. Antijen seçiciliğini açıklayan bir hipotez şudur: apopitotik hücrelerin ürünleri (nükleozomlar gibi) konağı uyarır. Bazı klinik gözlemler bu hipotezi destekler. Apopitotik hücrelerin geri alımı ve işleme, tolerans ve otoimmünite ile yakından ilişkilidir (1).

SLE VE Apopitoz

Aktif SLE'li hastaların kanında nükleozomlar tespit edilmiştir. Nükleozomalara karşı otoantikolar DNA ve histonlara karşı otoantikorlardan daha önce oluşur, nükleozomlar DNA veya histonlara oranla, T hücre ve B hücreler için daha güçlü antijendir. Tek başına DNA veya histonlar değil ancak nükleozomlar, glomerüllerde depolanır; bu da lupus nefriti oluşumunda DNA-antiDNA immün komplekslerinden ziyade nükleozomların fiksasyonunun rol oynadığını düşündürür. Keratinositler gibi hücreler programlı hücre ölümüne girdiğinde, SLE antijenlerinin çoğu apopitotik parçalara tekrar dağılırlar. Bu antijenlerin bazıları değişime uğrar, klavaj ve fosforilasyon gibi. Bu konuyla özellikle bağlantılı bir antijen fosfotidilserindir (PS). Apopitoz sırasında hücre yüzeyine geçer ve antikardiyolipin antikoları tarafından tanınır.

İnvitro olarak SLE'li hastaların periferik kan mononükleer hücrelerinde artmış apopitoz oranı gözlemlenmiştir. Bu da invivo olarak hızlanmış apopitozun olduğunu düşündürür. Bu olay SLE'li hastalardaki lenfopeniyi açıklayabilir (1).

SLE'li hastalarda yapılan çalışmalarda Fas aracılı apopitoz yollarında bir defekt bulunmamıştır. Bu hastalarda apopitotik lenfosit ve makrofaj sayılarının arttığı saptanmıştır (2). Ancak yine bu hastalarda plazmada çözünür Fas (sFas) reseptörü düzeyleri yüksek bulunmuştur. sFas'ın Fas reseptörlerine bağlanarak otoreaktif lenfositlerde apopitozu önlediği düşünülmüştür. SLE'de lenfositlerde Bcl-2 düzeyleri de artmıştır. Sonuç olarak apopitoz engellenmiştir (14).

Apopitotik cisimlerin temizlenmesinin SLE ile ilgisini destekleyen bir diğer bulgu da konjenital kompleman yetersizliklerinde spontan olarak SLE gelişmesidir. Kompleman faktörleri apopitotik cisimlerin fagositozu için önemlidir (6).

Apopitoz sırasında hücre membranının dış yüzeyine geçen PS'in antifosfolipid sendromunda etkisi hakkında da tartışmalar mevcuttur. Antifosfolipid antikoları SLE'li hastaların üçte birinde görülür (2). Bu antikoların bazıları plazma protein $\beta 2$ glikoprotein ($\beta 2GP1$) ya da bu proteinin diğer lipidlerle oluşturduğu komplekslere karşıdır. $\beta 2GP1$ 'in apopitotik hücrelere bağlanması fagositozu artırır. Bu proteine karşı antikor oluşması özellikle endotelde prokoagülan bir zemin hazırlar ve endotelde programlı hücre ölümünü artırır (2,15).

Proliferatif lupus nefritinde Bcl-2 miktarında artma tespit edilmiştir. Endonükleazlarla parçalanmış kromatin ve histon proteinleri apopitozda nükleozomlarda tutulur. Pozitif yüklü apopitozomlar, negatif yüklü glomerüler bazal membranda birikerek lupus nefriti oluşmasında önemli rol oynarlar (1,16).

SLE'li hastalarda epidermiste bazal hücrelerde Bcl-2 miktarı azalmış, Fas miktarı artmıştır. Dolayısıyla bazal hücre ve epidermal hücrelerde apopitoz artmıştır (17).

Romatoid Artrit ve Apoptoz

Romatoid artritte sinoviyal dokudaki proliferasyonda, sinoviyumu infiltre eden hücrelerde ve periartiküler osteoporozu açıklamada apoptotik mekanizmaların önemli rolleri vardır (2).

Histolojik olarak RA, sinoviyumda inflamatuvar hücre birikimi ile karakterizedir; bu da pannus oluşumu ve kırıldak ile kemiğin harabiyete yol açar (18). RA'li sinoviyumunda Fas ve FasL tespit edilmesine, RA'li sinovisitlerde apoptoz varlığı gösterilmesine rağmen, sinovisit apoptoz miktarı, proliferasyonla uyumlu değildir. Bu dengesizlik bir takım faktörlerle açıklanır. Birincisi, FasL sinoviyal T hücreler üzerinde göreceli olarak düşük düzeylerde üretilir ve çözünür Fas veya FasL komponentler Fas-bağımlı apoptozu engelleyebilir. TNF-alfa, IL-1beta ve TGF-B₁ gibi sitokinler (sinovisit proliferasyonunu artırır, apoptozu yatkinlığı azaltır) RA'li hastaların eklemelerinde fazla miktarda bulunur. Bunlar ve diğer sinyaller, NF-KB aktivasyonu, bcl-2 ve IAP survivin miktarının artışı üzerinden sinovisitlerin apoptozunu azaltır. Pannusun büyümesi, oksidasyon ve büyüme baskılayıcı protein p53 mutasyonları gibi inflamatuvar olaylarla desteklenir (1,19).

RA'da sinoviyal hücrelerde, romatoid sinoviyumu infiltre eden lenfositlerde Fas miktarı artmıştır ve bu hücreler Fas aracılı in vivo ve in vitro apoptozu giderler. Sinoviyumdaki aktif T hücreleri FasL eksprese ederek sinoviyal hücrelerin apoptozuna yol açarlar. Ancak hastalarda sinoviyumda proliferasyondaki artış apoptozun önüne geçmiştir. Dolayısıyla Fas/FasL sistemi bu hücrelerin eliminasyonu için yeterli olmamaktadır (20). Sinoviyal fibroblastlarda Bcl-2 miktarının oldukça artmış olduğu gösterilmiştir. Sinoviyal doku örneklerinden yapılan çalışmalarda da NFκB aktivitesinin de arttığı bulunmuştur. Bcl-2 ve NFκB'nin inflamatuvar sitokinlerce uyarıldığı düşünülmektedir (15).

Sinoviyumu infiltre eden hücrelerde ise Fas ve FasL miktarındaki artışa rağmen, Bcl-2'nin fazla üretimi, stromal hücrelerden üretilen anti-apoptotik faktörler ya da lenfosit ve sinoviyal

hücreler arası etkileşim nedeniyle apoptoz düşük orandadır (21-23).

Sjögren Sendromu ve Apoptoz

Sjögren Sendromunda (SS) ekzokrin glandların harabiyeti, asiner epitelial hücrelerde kaspas aktivasyonu ve apoptoz artışı gösterilmiştir (2).

Tükürük bezlerinde Fas artışı devamlıdır ama asiner epitelde normalde FasL bulunmaz. Sitokin aracılı FasL artışı veya asiner hücrede aşırı üretimi bez hasarına yol açabilir (2).

Lenfositik infiltratlarda ise Bcl-2 miktarı artmıştır. Bu durum uzun süren hastalıkta görülen lenfoproliferasyon ve B hücreli psödolenfoma riskindeki artışı kısmen açıklayabilir (2).

Primer SS'li hastalarda yapılan çalışmalarda Fas/FasL gen polimorfizmi gösterilmiş ancak bunun aminoasit değişikliğine yol açmadığı bulunmuştur (2).

Sistemik Skleroz

SSc hastalarının dermal fibroblast kültürlerinde Bcl-2 artışı gösterilmiştir. Yine bu hastalarda endotelial hücrelerin apoptozunun lenfosit infiltrasyonundan önce gerçekleştiği anlaşılmıştır (2).

Miyopatiler

Polimiyozit (PM), dermatomyozit (DM) gibi inflamatuvar miyopatiler dışında metabolik miyopatiler, denervasyon bozuklukları ve musküler distrofilere de Fas artışı gösterilmiştir (2).

PM ve DM'de kasları infiltre eden mononükleer hücrelerde FasL artışı tespit edilmiştir. Bazı hastalarda perforin artışının da tespit edilmesi, başka mekanizmaların da etkili olup olmadığı hakkında tartışmalara neden olmuştur (2).

Seronegatif Spondiloartropatiler

Bu grupta en çok incelenen psöriazis ve psöriatik artrit. Psöriaziste keratinositler, sinoviyal hücreler, dermal ve sinovium kökenli fibroblast hücre serilerinde p53 üretiminde artış gösterilmiştir (2).

Juvenil İdiopatik Artrit (JRA)

Sistemik ve oligoartiküler formdaki JRA'de T hücrelerde Fas aracılı apoptotik yolda hasar bu-

lanmamıştır. Ancak TNF α düzeyleri yüksek bulunmuştur (2).

Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF)

FMF'li hastalarda Fas düzeyleri normal, FasL düzeyleri ataklar sırasında artmış bulunmuştur. Nötrofil ve monositlerde FMF atakları sırasında apopitozun arttığı, ama bu durumun lenfositler için geçerli olmadığı bulunmuştur (24).

Osteoartrit

Kondrosit apopitozu, eklemlerin normal gelişimi sırasında oluşur. Primer veya sekonder osteoartritin altında yatan temel mekanizma kartilaj hasarıdır. Hasar, enzimatik olarak ve NO ile indüklenen hücre dışı matriks yıkımı ve yeni matriks sentez yetersizliği ile olur (1). Yüzeysel ve orta kartilaj bölgelerinde (erken kartilaj dejenerasyonunda en çok etkilenen bölgeler) normal ve osteoartrit kaynaklı kondrositler, Fas üretirler ve Fas aracılı ölüme duyarlıdır (25). Osteoartritli hastalardan alınan kondrositler, normal kontrollerle kıyaslandığında bu bölgelerde artmış spontan apopitoz sergiler. NO, kondrositlerde apopitozu baskılayabilme özelliğine sahip olsa da, Fas yolunda rol oynamadığı görülür. Bu bulgular göstermektedir ki; kondrosit apopitozu osteoartritte rol oynar ve NO sentez inhibitörleri bu hastalığın tedavisinde faydalı olabilir (1).

Osteoporoz

Artmış kemik rezorpsiyonu, azalmış kemik sentezi veya ikisinin kombinasyonu sonucu oluşan yaygın bir hastalıktır. Bir çok yaygın östrojenin osteoporozda yararlı etkilerini osteoklastların apopitozunu baskılayarak gösterdiklerini desteklemektedir. Glukokortikoid-bağımlı osteoporoz, artmış osteoblast ve osteosit apopitozu ile açıklanabilir. Kemik döngüsünü etkileyen birçok faktöre ek olarak, TNF-R ailesinin çözünür bir üyesi olan osteoprotegenin (OPG) veya osteoklastogenez inhibitör faktör (OCIF), OPG ligandına bağlanarak osteoklastik aktiviteyi inhibe eder. Bu ligand, osteoblastlar ve T hücreler üzerindedir (1,26).

Tedavi Ajanları ile Apopitozun Kontrolü

Otoimmün romatizmal hastalıkların tedavisinde sık kullanılan ilaçların apopitoz mekanizmaları üzerinde değişik etkileri mevcuttur (1,2).

Aspirin ve nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaçlar COX inhibisyonu yaparak araşidonik asit miktarını azaltırlar. Proinflamatuvar sitokin ve PG'lerin sentezi azalır. Bu da sfingomyelinden seramid oluşumunu artmasına neden olur. Seramid proapoptotik bir lipiddir. Dolayısıyla NSAİİ'lerin apopitozu artırıcı etkileri bulunur.

Glukokortikoidler T, B hücre ve nötrofil apopitozunu indükler, NF κ B aktivasyonunu bozar, düzenleyici proteinlerin (c-myc, Bcl-2, p53, Il-2, IL-6, Il-2 reseptörü α zinciri gibi) salınımını etkilerler. Osteoblast ve osteosit apopitozunu artırır. Ama periferik mononükleer hücrelerden gelen FasL tarafınca, Fas üreten osteoblastların apopitoza sokulmasını önledikleri için RA gibi hastalıklarda ufak dozda koruyucu olabilirler.

Birçok sitotoksik veya immünsüpresif ilaç, sıklıkla p53 yolu üzerinden lenfosit ölümünü baskılar, antiinflamatuvar etki gösterirler. Mtx'in adenosin reseptörleri üzerinde etkileri olmasına rağmen, çok çok düşük dozlarda bile Mtx invitro ve RA'li hastalarda aktive lenfositlerin apopitozunu artırır.

Metotreksat yüksek dozda kanser hücresinde (Fas aracılı?), düşük dozda aktif lenfositlerde invitro ve RA'lı hastalarda Fas aracılı apopitozu artırır. Psöriaziste keratinositlerde programlı hücre ölümüne neden olur. RA sinoviumunda apopitozu baskılar.

Anti-TNF α monoklonal antikoları ve insan rekombine TNF reseptörleri Fas'a duyarlılığı artırır. Ancak bu konuda daha kapsamlı araştırmaların yapılması gereklidir.

Siklosporin (CsA) ve makrolid antibiyotik olan takrolimus(FK 506) T ve B oloreaktif lenfositlerde apopitozu artırır. Sinoviyal inflamasyona katılan hücrelerde apopitoz yaparlar. CsA'nın nefrotoksitesi, renal proksimal tübül hücrelerinde

Fas/FasL aracılı apoptoz ile açıklanabilir. Bu ilaçların anti-apoptotik etkileri sitotoksik T hücrelerinde FasL kontrolünün azalması şeklindedir.

Siklofosamid birçok kanserde ve ağır otoimmün hastalıklarda kullanılan alkilleyici bir ajandır. Etkisi kısmen tümör hücrelerinin apoptozu üzerine olmaktadır. Apoptoz indüksiyonu oligospermi, azospermi, pankreatik B hücre hasarı gibi yan etkilere de yol açabilir.

Bisfosfonatlar, anti-resorptif ilaçlardır. Paget hastalığı, kemik tümörleri, ektopik kalsifikasyon ve osteoporoz gibi birçok metabolik kemik hastalığında kullanılır. Etki mekanizmaları osteoklast fonksiyon ve yaşamına direkt ve indirekt etkilerini içerir. Bisfosfonatlar, kaspas aktivasyonu ve GTP bağlayıcı Ras benzeri proteinlerin modülasyonu ile osteoklast apoptozu yaparlar. Benzer şekilde makrofajlarda da apoptozu yol açtıkları için anti-inflammatuar potansiyelleri olduğu düşünülmektedir.

Apoptozu düzenleyen eden biyokimyasal yolların anlaşılması yeni tedavi seçenekleri ortaya çıkarmaktadır. Bazı durumlarda, sjögren sendromu veya polimiyozitte olduğu gibi sitotoksik efektör hücrelerin apoptozunu ya da romatoid pannusta olduğu gibi hedef hücrenin kendisinin apoptozunu baskılamak faydalı olabilir. Eğer öldürülecek bir hücrenin yüzeyinde selektif olarak bir ölüm reseptörü varsa, bir ölüm ligandı uygulanabilir. Buna örnekler: deneysel artritte Fas agonistlerin kullanımı ve invivo kanser hücrelerini selektif olarak öldürmek için TRAIL kullanımı. Gen tedavisi yaklaşımları ile hücre içinden proapoptotik yollar başlatılabilir (27).

Apoptotik hücre ölümünün organ fonksiyon kaybına yol açtığı hastalıklarda, ölüm ligandı monoklonal bir antikor veya solubl reseptör füzyon proteini ile bloke edilebilir. Her iki tip ajan da RA'de TNF-alfa blokajı için kullanılmaktadır.

Sonuç olarak, apoptoz mekanizmasındaki temel noktalar aydınlatıldıkça sadece farklı hastalıklardaki patofizyolojik nedenlerin ortaya çıkarılması sağlanmış olmayacak, yeni tedavi plan ve stratejileri geliştirilmesinde de önemli adımlar atılmış olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Keith B, Elkon. Apoptosis. In: Edward D. Herris JR. Shaun R. Kelley's Textbook of Rheumatology sixth edition Volum1. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 291-300.
2. Grodzicky T, Elkon B. Apoptosis in Rheumatic Diseases. Am J Med 2000; 108: 73-82.
3. Majno G, Joris I: Apoptosis, oncosis and necrosis: An overview of cell death. Am J Pathol 1995; 146:3-15.
4. Özoran Y. Apoptosis. In: Robbins S. Cotron R, Kumar V. Basic Pathology fifth edition. Philadelphia: WB Saunders company. 1992: 14-5.
5. Ellis RE, Jacobson DM, Horvitz R: Genes required for the engulfment of cell corpses during programmed cell death in *Caenorhabditis elegans*. Genetics 1991; 129:79.
6. Fishelson Z, Attali G, Mevorach D. Complement and apoptosis. Mol Immunol 2001; 38: 207-19.
7. Itoh N, Nagata S: A novel protein domain required for apoptosis: Mutational analysis of human Fas antigen. J Biol Chem 1993;268: 10932.
8. Nagata S, Fadok V, Henson P: Phagocyte recognition of cells undergoing apoptosis. Immunol Today 1993;14:131-36.
9. Chinnaiyan AM, O'Rourke K, Tewari M, et al: FADD, a novel death domain-containing protein, interacts with the death domain of Fas and initiates apoptosis. Cell 1995; 81:505.
10. Muzio M, Chinnaiyan AM, et al: Flice, a novel FADD homologous ICE/CED-3-like protease, is recruited to the CD95 death inducing signaling complex. Cell 1996;85:817.
11. Ashkenazi A, Dixit VM, Death receptors: signaling and modulation. Science. 1998;281:1305-8.
12. Sun EW, Shi YF. Apoptosis: the quiet death silences the immune system. Pharmacol Ther 2001; 92: 135-45.
13. Yurtkuran M. Romatizmal Hastalıkların İmmunogenetiği In: Beyazova M, Gökçe-Kutsal Y. Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon cilt2, Ankara: Güneş kitapevi 2000: 1524.
14. Bijl M, Horst G, Limburg PC. Anti-CD3 induced and anti Fas-induced apoptosis in SLE. Clin Exp Immunol. 2001; 123: 127-32.
15. Eguchi K. Apoptosis in autoimmune diseases, Intern Med 2001; 40: 275-84.
16. Tınaztepe K, Özen S, Güçer Ş, Özdamar S. Apoptosis in renal disease: a brief view of the literature and report of preliminary findings in childhood lupus nephritis. Türk J Pediatr 2001; 59: 66-75.
17. Baima B, Sticherling M. apoptosis in different cutaneous manifestations of lupus erythematosus, Br J Dermatol 2001; 144: 958-66.
18. Lafyatis R, Remmers EF, Roberts AB et al: Anchorage independent growth of synoviocytes from arthritic and normal joints. Stimulation by exogenous platelet derived growth factor and inhibition by transforming growth factor beta and retinoids. J Clin Invest. 1989;83:1267-76.
19. Firestein GS, Echeverri F, Yeo M et al. Somatic mutations in the p53 tumor suppressor gene in Rheumatoid arthritis synovium. Proc. Natl Acad Sci USA. 1997;30:10895-900.

20. Cantwell MJ, Hua T, Zvaifler NJ, Deficient Fas ligand expression by synovial lymphocytes from patients with Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum.* 1997;40:1644-52.
21. Finesteyn G.S. Yeo M. Apoptosis in Rheumatoid arthritis synovium. *J Clin Invest* 1995; 96: 1631-8.
22. Koopman W. Apoptosis In: Koopman W. *Arthritis and Allied Conditions a textbook of Rheumatology* 14nd edition volum1, Philadelphia: 987-8.
23. Pignatti P, Massa M, Martini A, Activation induced cell death and Fas- induced apoptosis in patients with systemic or pauciarticular juvenile idiopathic arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2001; 19: 339-44.
24. Ozen S. Uckan D, Baskın E, Increased neutrophil apoptosis during attacks of familial mediterranean fever. *Clin Exp Rheumatol* 2001; 19: 68-71.
25. Hashimoto H, Tanaka M. Suda T. Soluble fas ligand in the joints of patients with RA and OA. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 657-62.
26. Robert S. Weinstein RS, Manolagas SC, Apoptosis and osteoporosis, *Am J Med* 2000; 108: 153-64.
27. Vaux DL. Flavel RA. Apoptosis genes and autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2000; 12: 719-24.

Geliş Tarihi: 23.01.2003

Yazışma Adresi: Dr. Saime SARIOĞLU
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD,
06100 Sıhhiye, ANKARA