

Apoptozis ve İmmün Sistem

APOPTOSIS AND THE IMMUNE SYSTEM

Yavuz BAYKAL*, Gülsüm ÖZET**, Fikri KOCABALKAN***

* Doç.Dr.,GATA İç Hastalıkları BD,

** Dr.,Ankara Nümune Hastanesi,

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

Apoptozis

Apoptozis, ağaçlardan yaprakların dökülmesi anlamında latince bir kelime olup organizmada oluşan hücre ölümlerinin en sık nedenidir. Apoptozis, patoloğlar ve fizyoloğlar tarafından yıllardır mikroskop altında görülmesine rağmen tam olarak isimlendirilmesi mümkün olmamıştır. Yetmişli yılların başlangıcında İngiliz ve Avustralyalı bilim adamları bu spesifik hücre ölümü için apoptozis terimini kullanarak bunu nekroza bağlı ölümden ayırmışlardır. Nekroz genellikle dokunun dışarıdan bir etki ile injüriye bağlı olarak oluşmakta olup sonunda hücreler rüptüre olmaktadır.

Apoptozis sırasında oluşan hücre boyanması mikroskop altında harikulade bir görünüm göstermektedir. Hücreler, başlangıçta kaynamaya benzer şekilde yaygın olarak hareket etmeye başlarlar ve daha sonra kabarcıklaşma dönemine geçerler. Hücreler bilahare küçük kabarcıklarını atarlar ve sonunda hücre büzüşür ve parçalanır. Apoptozis, dokuda bulunduğu yerde oluşur ve ölen hücreler, komşu hücreler veya fagositler tarafından herhangi bir inflamasyona neden olmaksızın yok edilir ve hücre DNA'sı, DNA'yı parçalayan enzimler vasıtasıyla küçük parçalara ayrılır (2).

İmmün reaksiyon tamamlandığında antijen spesifik lenfositlerin çoğu artık gerekli değildir. Bu hücrelerin çok az bir kısmı memory hücrelerine dönüşür. Bu hücreler daha sonra yeni antijenle karşılaştığında daha hızlı ve şiddetli reaksiyon gösterirken, diğer hücreler apoptozis ile yok edilirler. T

lenfositlerinin apoptozisi, periferik immün sistemde başka nedenlerle ortaya çıkabilir. Apoptozisle, yaşlı T lenfositler, timusun kontrolundan ve denetiminden kaçan otoreaktif T lenfositler öldürülür. Timustaki bu negatif seleksiyon otoreaktif T lenfositlerinin elimine edilmesinde en güvenilir mekanizmadır ve böylece organizmanın self toleransı korunur. Lenfoid sistemde otoreaktif hücrelerin çoğalması ve seleksiyonunun düzenlenmesi apoptozisin uyarılmasıyla oluşur. Lenfositlerdeki apoptozisi uyaran sinyallerin çoğu iyi tanımlanmıştır. Fas ve ligandı arasındaki etkileşimler periferik T lenfositler ve otoreaktif B lenfositlerin kaybında önemli rol oynar. İmmün sistem hücreleri ekstrasellüler nükleotidler için plazma membran reseptörleri eksprese ederler (3). Hem G proteinleri ile ilişkili metabotropik hem de kanal oluşturucu ionotropik reseptörler tanımlanmıştır. Metabotropik reseptörler insan B lenfositlerinde tanımlanmış olmasına rağmen, T lenfositlerinde tanımlanmamıştır. Makrofaj ve mikroglia hücreleri ionotropik reseptörlerinin geçici uyarılması IL-1b salınımını artırır. Devamlı uyarı, hücre tipine bağlı olarak hem nekroz hem de apoptozis ile hücre ölümüne neden olur (4).

İmmün Sistem Dışında Apoptozis

Apoptozis sadece immün sistemde değil aynı zamanda diğer bir çok organlarda da oluşmaktadır. Örneğin, embriyoda kompakt doku tomurcuklarının oluşumuyla embriyonik dudakların normal gelişimi başlar. Başlangıçta el ve ayakların gelişimi solid tabakaların gelişimine benzese de daha sonra parmaklar ile baş parmak arasındaki hücreler genetik gelişim süresince apoptozis ile yok edilirler. Apoptozis karaciğerde de oluşmakta olup bu şekilde yaşlı ve mutasyona uğramış hepatositler yok edilir veya yenileriyle yer değiştirir. Apoptozis

Geliş Tarihi: 07.12.1996

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

ve bunu takibinde hücre proliferasyonu karaciğerin fonksiyonları ve oluşumu için önemlidir. Beta tirozin ailesi içerisinde yer alan asidik bir protein olan G-aktin proteinleri DNA-az 1 vasıtasıyla apoptoziste önemli rol oynayabilir (5). Embriyoda veya matur organizmada apoptozisin bu örneklerini çoğaltmak mümkündür. Bununla beraber apoptozise neden olan moleküller mekanizmayı hala anlayabilmiş değiliz. Apoptozis kontrolsüz proliferasyonu giderici bir olay olarak da yorumlanabilir. Farelerde, CD38'in hem B lenfositlerinin regülasyonunda hem de radyasyonun neden olduğu apoptozisten korunmada rol oynadığı gösterilmiştir (6).

Apoptozisin İncelenmesi

Kontrolsüz tümör hücrelerinin blokajı apoptozisin incelenmesinde başlangıç noktasıdır. Muhtemel olarak, tümör hücrelerinin proliferasyonu bu hücrelerin yüzeyinde bulunan büyüme hormonları reseptörleri ile uyarılır. Bu reseptörler monoklonal antikorlarla bloke edilirse tümör hücrelerinin proliferasyonu azalır (7). Bcl-2 gen ürünü apoptotik hücre ölümlerinin regülasyonunda rol oynayabilir ve bu gendeki bozukluğa bağlı olarak immün sistemde çeşitli bozukluklar meydana geldiği gösterilmiştir. Bcl-2 ekspresyonundaki bozukluğun IDDM etyolojisinde rol oynadığı düşünülmektedir (8).

Farelere antikor gelişinceye kadar insan tümör hücreleri inokule edilip daha sonra farelerin antikor üreten B lenfositleri doku kültürlerinde tümör hücreleri ile füzyona uğratılırsa hibridoma hücreleri oluşur. Bunların iki önemli özelliği vardır. Birincisi, fare tümör hücrelerinin karakteristik olarak kültürde devamlı olarak çoğalması, diğeri ise inokule edilmiş farelerde insan tümör hücrelerine karşı fare B lenfositleri tarafından spesifik antikorlar meydana gelmesidir. Bu şekilde yaklaşık olarak 15.000 kadar spesifik anti-tümör antikorları oluşturulmuş ve daha sonra bunları insan tümörlerini küçültüp küçültmediği araştırılmıştır. Bu inceleme sırasında hibridomalarda oluşan antikorlardan bir tanesinin insan tümör hücrelerinin büyümesini durdurduğu veya tümör hücrelerinin sayısının azalttığı tespit edilmiştir. Bu olay göz önüne alındığında, antikorların tümör hücrelerinde apoptozise neden olması şaşırtıcı değildir (9). Tümör hücrelerinin yüzeyinde antikorların yöneldiği bu yapı APO-1, buna karşı oluşan antikorlar da anti APO-1 olarak adlandırılmıştır (10).

Japon bilim adamlarından bir grupta benzer antikorları bularak bunları anti-Fas antikorları olarak isimlendirmişlerdir. Daha sonra bu antikorların benzer oldukları kabul edilmiş ve bir komisyon tarafından bunlara APO1/FAS (CD95) denilmiştir (11). Apoptozis hücresele seviyede kansere karşı korunmada önemli rol oynayabilir. Apoptozisin pronkogenlerin ve tümör süpressör genlerinin regülasyonunda da rol oynadığına dair kanıtlar vardır (12). Kolanda safra tuzlarında yüksek konsantrasyonda bulunan sodyum dioksikolatın kolonik mukozada goblet hücrelerinin apoptozisine neden olarak kolon kanserinin oluşumunda önemli rol oynadığı belirtilmektedir (13). Apoptozisi tetikleyen APO1/Fas, ölüm reseptörü olarak adlandırılmıştır. Bu molekül insan vücudundaki hücrelerin çoğunun yüzeyinde gösterilmiş olup hücrelerin apoptozise uğramasında bu reseptörlerin gösterge olduğu kabul edilmiştir.

CD95 Molekülü ve Apoptozis

CD95'in immün sistemdeki rolü için bir çok açıklamalar yapılmıştır. CD95, APO-1 Fas ligandı olarak bilinen doğal bir ligand içerir. CD95 hücrelerde apoptozis, veya ölüm ligandları (CD95L) vasıtasıyla tetiklenir. Hem anti CD95 antikorlar hem de CD95L'ı hücre yüzeyinde CD95 reseptörleri ile etkileşir ve bu olay hücrede ölüm sinyalini oluşturur (14, 15). CD95 reseptörü üç kısımdan oluşur; hücrenin iç kısmında uzanan intrasellüler kısım, hücre membranını boydan boya geçen transmembranöz kısım ve hücrenin dış kısmında bulunan ekstrasellüler kısım. Reseptörün hücre dışı kısmı TNF ve NGF reseptör ailesi ile büyük bir benzerlik gösterir. CD95'in hücre dışı bölümü hücrenin etrafını çeviren moleküllerle ilişki kurar, CD95 antikorlara ve CD95 ligandına bunların bağlanmasını sağlar (16). Diğer taraftan CD95'in hücre içi bölümü apoptozis için gerekli sinyalin başlangıçtaki uyarım için gereklidir. Bundan dolayı CD95'in hücre içi bölümünün belirli bir kısmı çok önemli olup bu kısım ölüm halkası olarak bilinir. Ölüm halkasındaki etkileşmeler apoptozisi tetiklemektedir. CD95 vasıtasıyla sinyal iletimi ilginçtir, çünkü CD95'in ekspresyonu, sinyali ya apoptozise duyarlı hücreler üzerine gönderecek ya da CD95 vasıtasıyla apoptozise direnç olacaktır. CD95'e bağlı apoptoziste ilk basamak muhtemel olarak şöyledir; CD95L'ı CD95R'e bağlanır ve bu bağlanma sırasında üç ligand molekülü ile üç reseptör molekülü bir komp-

leks oluşturur. Bunlar belli bir noktaya yönelmek amacıyla CD95 reseptörlerinin üç hücre içi ölüm halkalarını oluştururlar ve böylece hücre içinde çok daha fazla sayıda molekülün oluşmasına neden olurlar ki bu moleküllere "sitotoksitelye bağımlı apoptozis ile ilgili proteinler" (CAP) denir. CAP proteinlerinin CD95 ile oluşturdukları komplekse ise "ölümüne neden olan sinyal kompleksi" (DISC) denir. DISC'in oluşumu apoptozise yol açar. Eğer DISC oluşmamışsa apoptozis uyarılamaz ve hücreler apoptozise dörençli kabul edilir (15).

Fas ile ilgili protein faktörü (FAF-1), L hücrelerinde geçici olarak eksprese edildiğinde Fas'ın indüklediği apoptozis potansiyelize edilir. Bundan dolayı FAF-1, Fas'ın indüklediği hücre ölümünü artırır ve apoptozisin regülasyonundaki sinyal iletiminde rol oynar (25). DISC oluşumundaki bozukluğa bağlı sinyal defekti, genetik olarak, Ipr-cg farelerde CD95R ile ilişkin ölüm halkasındaki bir mutasyonu gösterir. Mutasyona bağlı olarak, CD95R'nin miktarı veya CD95L'nin ekspresyonu azalır. Gld farelerde mutasyona uğramış CD95L'ı, CD95R'ne bağlanamaz ve bu olay sonucu CD95'e bağlı apoptozis önlenir. Benzer bulgular Ipr, Ipr-cg ve gld farelerde de gösterilmiştir (17). Mutasyonlara bağlı olarak dalak ve lenf bezlerinde önemli bir büyüme meydana gelir ki bu defekt NK lenfositlerinin patolojik birikimine bağlıdır. Bu olaylar sonucunda otoantikorlara bağlı olarak SLE benzeri bir tablo ortaya çıkabilir (18). Benzer bulgular CD95 sisteminde genetik defekti olan çocuklarda da bulunmuştur. Genetik olarak defekt gösteren çocuklarda ve farelerde ortaya çıkan hastalık hem B lenfosit hem de T lenfositlerde azalmaya neden olan CD95 ile ilişkili apoptozis ile açıklanabilir. Fonksiyonları bozulan T ve B lenfositlerinin birikimi lenfoid organların büyümesine ve otoantikor oluşumuna neden olur (19). CD95 sistemindeki bu varsayım ile ilgili bulgular immün sisteminin fonksiyonu için önemlidir. CD95 sistemi, muhtemelen timüs vasıtasıyla olan negatif seleksiyonda rol oynamaz, bundan dolayı periferik immün sistem, lenfositlerin apoptozisi için büyük bir öneme sahiptir. Periferde CD95 sistemi ile ilgili bir sorun otoreaktif lenfositlerin kendi kendilerini, komşu T lenfositlerini veya CD95 sisteminin yardımıyla B lenfosit gibi diğer hücreleri öldürüp öldürmediğidir. Muhtemelen T lenfositler, T lenfosit reseptörleri vasıtasıyla antijen aktivasyonundan sonra hem CD95 ölüm reseptörü hem de CD95

ölüm ligandı meydana getirir. CD95 ve CD95L hem hücre membranı üzerinde hem de so-lubl olarak bulunurlar. Hem CD95 ölüm reseptörü hem de CD95 ligandı taşıyan T lenfositler indüklenmiş apoptozis ile kendini öldürebilirler ke hücre ölümünün bu şekline otokrin intihar denir. Hücre membranında CD95'na sahip T lenfositler diğer komşu CD95+ T hücrelerini de öldürebilirler ki bu duruma kardeş katilliği denir. Ayrıca CD95L'nin ekspresyonu, parakrin bir şekilde komşu hücrelerini öldürürken, diğer non T lenfositlerde benzer bir mekanizma ile T lenfositlerince öldürülebilirler (20). T lenfositlerinin öldürülmesi veya intiharı hakkında karar T lenfositlerinin topluluktaki yoğunluğuna bağlı olabilir. İzole olmuş T lenfositler belkide intiharcı olarak kabul edilebilir. Belkide hücre popülasyonda yoğun olarak bulunan T lenfositler, diğerlerini öldürmektedirler. Bununla beraber T lenfositlerinin apoptozise bağlı ölümü, araştırmaların odak noktasını oluşturmuştur. Sadece apoptozis değil, aynı zamanda apoptozisin önlenmesi de ilginin yoğunlaştığı bir konudur (7).

CD95 sisteminin fonksiyonlarının açıklığa kavuşturulması apoptozisin neden olduğu hastalıkların anlaşılmasına yardım edecektir. Şimdiye kadar otoimmün hastalıklarda CD95 sisteminin bozukluğunu gösteren direkt bir bulgu yoktur. Sadece fare ve insanlarda CD95 sisteminin genetik defektine bağlı olabilecek bir otoimmün fenomen mevcuttur. Yinede CD95 sistemi immünojenik düzenlemede ve periferik self toleransa katkıda bulunabilir. Sinyal iletimiyle ilgili bozukluklar, regülatör moleküllerin halkasında lokalize olabilir ve böylece bozuk bir sinyal iletimi söz konusu olabilir. Tümör kitlesinde artış, apoptozis oranının azalmasına bağlı hücre ölümünün kontrolsüz proliferasyonu ile açıklanabilir. Genetik mutasyonlar vasıtasıyla aktive edilmiş hücre içi anti-apoptozis programı, apoptozis duyarlılığının azalmasına yol açarak tümör oluşumunda ve kemoterapi süresince rezistans gelişiminde rol oynayabilir (17). Vücutta birçok organda apoptozis gösterilmiştir. Mesela karaciğerin bazı hastalıklarında apoptozis belirlenmiştir. Viral hepatitlerde apoptozis ile ilgili göstergeler vardır (20). Spesifik anti viral T lenfositleri virüs istilasına uğramış CD95+ karaciğer hücrelerine saldırır ve onları apoptozis ile öldürebilir. Alkole bağlı hepatosit hasarı olanlarda CD95L üretimi, CD95+ hepatositlerin kendilerinde de bulunmuştur. İhtimaldir ki toksik alkol metabolitleri he-

patositlerin kendi kendini yok etmesine neden olan CD95'e bağlı apoptozisi uyarır (1).

AIDS vakalarında CD4 lenfositlerinin apoptozisi arttıkça hastalık ilerler. Buradaki sorun, CD4 lenfositlerinde azalmaya neden olan faktörlerden birinin, apoptozisteki artış olup olmadığıdır. Bazı bulgular HIV ile infekte kişilerde apoptozise bağlı CD4 lenfositlerin kaybının büyük oranda arttığını göstermektedir. Virüs ile infekte T lenfositlerinin hücre kültürlerinde, viral gen ürünleri vasıtasıyla CD95L üretiminde artışa neden olan bir molekül bulunmuş olup buna "tat" molekülü denilmiştir. Virüs ile infekte T lenfositlerde, tat ekspresyonu, infekte olmamış T hücreleri vasıtasıyla da oluşabilir. Tat proteini T lenfositlerinde CD95'e bağlı apoptozise yakınlığı artırır ve bu şekilde infekte olmamış aktif T lenfositlerinin ölümüne katkıda bulunabilir. Bu olay aynı zamanda diğer bir viral protein olan gp120 ile de artırılabilir. Gp120, Th hücrelesinin CD4 reseptörlerine bağlanır ve özellikle CD4 hücrelerde CD95'e bağlı apoptozisi uyarır (22). AIDS hastalığı ile ilişkili olarak mevcut görüşler doğrultusunda infekte virüslerin eliminasyonu için etkili bir tedavi yoktur. Bununla beraber son zamanlardaki araştırmalardaki yaklaşımlar tat veya gp120'nin etkilerinin nötralizasyonu ile CD95'i normal düzeylere getirecek apoptozisi azaltmayı amaçlamaktadır (23). Antijenin aktive ettiği T lenfositlerinin eliminasyonundan sonra immüno-supresif bir ajan olan FK506 apoptozisi uyararak immünolojik toleransta rol oynayabilir (24).

Sonuç olarak; hastalıklar tedavisindeki amaç, gereğinden fazla olan apoptozisi azaltmak yönündedir. Tümörlerde olduğu gibi, apoptozisin çok az olduğu hastalıklarda terapötik yaklaşım, apoptozise direnci azaltmak ve apoptozise duyarlılığı yeniden sağlamaktır. Böylece tümör hücrelerinin eliminasyonu başarılabılır. Bütün bu yaklaşımlar apoptozis sırasında meydana gelen olayların moleküler mekanizmasının anlaşılması esasına dayanmaktadır. Çünkü apoptozis vücudun bütün hücrelerinde indüklenebilir. Tasarlanmış olan tedavi yaklaşımları sadece hedeflenmiş hastalıklı hücreler vasıtasıyla olan bir tedavi yaklaşımını tanımlamaktadır. Özel bir önlem, belirli hücrelerde apoptozisi arttırmak veya önlemek olabilir. Bunu başarmak amacıyla yeni ve hayal gücü kuvvetli görüşler gereklidir.

KAYNAKLAR

1. Singh N, Anand S. Cell death by apoptosis J Exp Biol 1994; 32(12):843-7.
2. Azuma Y, Kizaki H. Molecular mechanism of apoptosis in the immune system J. Biol. Chem. 1995; 270(9):3725-9.
3. Williams GT. Rol of apoptosis in the immune system. Biochem Cell Biol 1994; 72(11):447-50.
4. Osborne BA. Apoptosis and the maintenance of homoeostasis in the immune system. Curr-Opin-Immunol 1996; 8(2):245-54.
5. Virgilio F, Ferrari D, Falzoni S, et al. P2 purinoceptors in the immune system. Ciba-Found-Symp 1996;199:290-302.
6. Kikuchi Y, Yasue T, Miyake K et al. CD38 ligation induces tyrosine phosphorylation of Bruton tyrosine kinase. Proc Natl Acad Sci 1995; 92(25):11814-8.
7. Barr PJ, Tomei CD. Apoptosis in its role in human disease. Biotech 1994;12(5):487-93.
8. Todaro M. Low bcl-2 expression and increased spontaneous apoptosis in T lymphocytes from newly diagnosed IDDM patients. Diabetologia 1995; 38(8):853-8.
9. Brunner T, Mogul RJ, Yao NJ, et al. Fas (CD95)/Fas ligand interaction mediates activation induced apoptosis T cell hybridomas. Nature 1995; 373:441-4.
10. Tewari M, Dixit VM. Fas and TNF induced apoptosis. J Biol Chem 1995; 270(7):3255-60.
11. Nagato S, Golstein P. The Fas death factor. Science 1995; 267(5203):1449-56.
12. May P, May E, Schwartz L, Yonish RE. Apoptosis and cancer. Rev Prat 1995; 45(15):1903-8.
13. Huang B, Eberstad M, Olejniczak ET, et al. NMR structure and mutagenesis of the Fas death domain. Nature 1996; 384:638-41.
14. Krammer PH, Dhein J, Weksak H, et al. The role of APO-1 mediated apoptosis in the immune system. Immunol Rev 1994; 142:175-91.
15. Larsen CP, Alexander DZ, Hendrix T, et al. Fas mediated cytotoxicity. Transplantasyon 1995; 60(3):221-4.
16. Suda T, Okasaki T, Natio Y, et al. Expression of the Fas ligand in cell of T cell lineage. J Immunol 1995; 154(8):3806-10.
17. Bettinardi A, Brugnoli D, Roldan E, et al. Missense mutations in the Fas gene resulting in autoimmune lymphoproliferative syndrome. Blood 1997; 89(3):902-9.
18. Elkon KB. Apoptosis in SLE too little or too much. Clin Exp Rheum 1994; 12(5):553-9.
19. Yosline T, Cao L, Matsuo Y, et al. Ligation of HLA Class II promotes sensitivity to CD95 mediated apoptosis Eur J Immunol 1995; 48(8):489-95.
20. Ridgway WM, Weiner HL, Fathman CG. Regulation of autoimmune response. Curr. Opin. Immunol 1994; 9:946-55.
21. Ameisen JC. Apoptosis and cell survival regulation. AIDS. 1994;8(9):1197-213.
22. Shi B, Girolami U, Wang S, et al. Apoptosis induced by HIV-1 infection of the central nervous system. J Clin-Invest 1996; 98(9):1979-90
23. Breiner HJ. Mechanism of HIV persistence. J Immune Defic 1995; 9(5):459-83.
24. Migita K, Eguchi K, Kawabe Y. FK506 augments activation-induced programmed cell death of T lymphocytes in vivo. J Clin Invest 1995; 96(2):727-39.
25. Chu K, Niu X, Williams LT. A Fas associated protein factor. FAF-1, potentiates Fas mediated apoptosis. Proc Natl Acad Sci 1995; 92(25):11894-8.