

# Apoptoz

## Varlığı ya da Yokluğu

### Bir Hastalık Nedeni

Zeynep SOLAKOĞLU

*İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

1. Tanım ve tarihçe (apoptozun morfolojisi)
2. Fizyolojik süreçlerde apoptoz
  - a. Embriyojenizde
  - b. Bağışıklık sistemi gelişiminde, işlevlerinde
  - c. Hasarlı hücrelerin temizlenmesinde-DNA hasarı-besin eksikliği-hatalı proteinlerin yapıldığı hücreler-virüsle infekte hücreler
3. Apoptotik mekanizmalar (apoptozun biyokimyası)
  - I. Hücre içi mekanizmalar
    - a. Mitokondriyal yol
    - b. Endoplazmik retikulum stresi
    - c. p53
  - II. Hücre dışı mekanizmalar
    - a. TNF alfa-cd95
    - b. Sfingomiyelin
    - c. Büyüme faktörü eksikliği
4. Apoptozu belirlemek için kullanılan laboratuvar yöntemleri
  - a. Mikroskopta morfolojik tanıma
  - b. TUNEL
  - c. Anneksin 5-fosfatidilserin boyama
  - d. DNA da merdiven biçiminde kırılma kalıbı
5. Patolojik süreçlerde apoptoz
  - a. Kanser ve apoptoz
  - b. Otoimmünite ve apoptoz
  - c. Nörodejeneratif hastalıklar ve apoptoz
  - d. Sepsis ve apoptoz
6. Tedavi açısından apoptoza müdahale ve gelecek için açılımlar

### Giriş

Çok hücreli bir organizmanın döllenmesinden başlayarak hücrelerinde mitoz, farklılaşma ve hücre ölümünün düzenlenmesi büyük önem taşır.

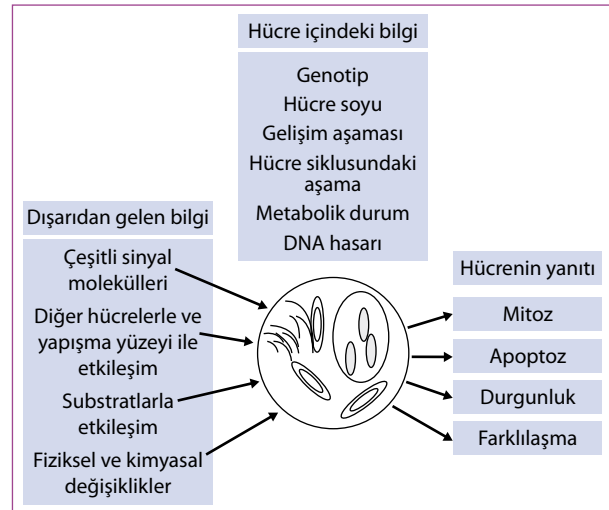
Bir hücrenin, yaşaması, bölünmesi, farklılaşması ya da ölmesi seçeneklerinden hangisine yöneleceği konusundaki karar, hücre içi ve hücre dışındaki etkenlerin etkileşimlerine bağlıdır. Dış ortamdan gelen sinyaller hücre yüzeyinde bulunan çeşitli reseptörlerle hücre içine iletir.

İletilen mesajın hangi yanıtı yol açacağı hücrenin iç ortamındaki karmaşık bir dizi etken tarafından belirlenir. Hücrenin ölümü yönündeki yol apoptozla sonuçlanır.

Hücrenin yaşamını bölünmeden sürdürmesi, çoğalması ya da ölmesi seçeneklerinden hangisinin gerçekleşeceğini belirleyen üç temel etmen vardır: besin maddelerinin (oksijen-glikoz gibi enerji gereksinimini karşılayanlar, aminoasitler gibi yapıtaşları) varlığı ya da yokluğu, büyüme faktörlerinin varlığı ya da yokluğu, hücre dışından gelen ve hücredeki reseptörler aracılığıyla hücreye iletilen ölüm sinyallerinin varlığı ya da yokluğu. Bu etkenler dışında hücrenin hasar görmesi ya da DNA yapısının bozulması da ölüm-yaşam kararının verilmesinde belirleyici rol oynar (Şekil 1).

### Tanım ve Tarihçe

Apoptosis kelime anlamı olarak çiçeklerin taç yapraklarının ya da ağaçların yapraklarını dökmesi ile benzeştirilen, “yaprak dökme” anlamına gelen bir terimdir. Programlı hücre ölümü adıyla da anılan bu süreç, hücrede bazen yeni proteinlerin sentezini, hücre iskeletinin yıkımı için



Şekil 1: İç ve dış sinyallere karşı hücrenin yanıtı

bazı proteaz enzimlerin ve DNA'nın parçalanması için DNazların aktif hale geçmesini tetikleyen, aktif olarak düzenlenen bir süreçtir.

Embriyologların 19. Yüzyılın sonundaki gözlemleriyle gündeme gelen programlı hücre ölümü kavramı 1965 de böceklerin başkalaşımında da tanımlanmış,<sup>4</sup> 1971 yılında Wylie, Kerr ve Currie, programlı hücre ölümü morfolojisini tanımlamış ve "apoptoz" terimini ilk kez kullanmışlardır.

Apoptoz çok hücreli bir organizmanın embriyonik dönemdeki gelişiminden başlayarak erişkin bir organizma olarak varolmasına ve yaşlanmasına dek bir çok gelişim aşamasında organizmada homeostazisin sürmesini sağlayan önemli bir fizyolojik işlevidir. Apoptoz, homeostazisin korunmasında embriyonik dönemde ekstremitelerin ve içi boş organların oluşumunda, dişi fetüste Wolf ya da erkek fetüste Müller kanallarının körelmesi sırasında ve merkezi sinir sistemi gelişiminde nöron sayısının düzenlenmesinde yer alarak; doğumdan sonra T ve B lenfositlerin seçiminde temel bir işlev yürüterek, ayrıca DNA sı ağır hasar gören ya da virüsle infekte hücrelerin ölümünü sağlayarak temel bir rol oynar.<sup>23,10</sup> Ayrıca büyüme faktörlerinin ortamdaki çekildiği koşullarda (emzirme sonunda meme bezinin, doğum sonrası uterusun) organlarda gerçekleşen küçülmenin de temel mekanizması, ilgili organlardaki hücrelerin apoptozla ölümüdür.

Hücre zarının ya da hücredeki metabolik süreçlerin çok hızlı ve ağır biçimde hasar gördüğü ve hızla bozulan zar geçirgenliğinin hücrenin şişmesi ve zarın patlayarak hücre içi maddelerin dışarı saçılmasıyla sonuçlanan nekrotik süreçten farklı olarak<sup>16</sup> apoptozda zar bütünlüğü bozulmaz. Apoptoz ve nekroz dışında otofaji, paraptosis ve onkosis gibi farklı hücre ölümü tipleri de tanımlanmışsa da apoptoz dışındaki isimlendirmelerin biyokimyasal ya da morfolojik tanımları ve klinik önemleri üzerinde bir uzlaşma bulunmamaktadır.<sup>17</sup>

Nekroz ve apoptoz ile ölüm; morfolojik özellikleri, oluşumlarında yer alan biyokimyasal süreçler, tetikleyen mekanizmalar ve sonuçları açısından önemli farklar gösterir. Bu farklar Tablo 1 de özetlenmiştir.

Apoptotik bir uyarının ardından hücre yapıştığı zeminde ve komşu hücrelerden ayrılarak küçülür, çekirdek içinde kromatin yoğunlaşır, sürecin ilerlemesiyle hücre zarla sarılı tomurcuklar halinde kopar, bu parçalar çevredeki komşuları ya da profesyonel fagositler tarafından fagosite edilir. Apoptotik süreçte inflamasyon oluşmaz.

## Apoptozun Biyokimyası

Tanımlandığı günlerden bu yana geçen yaklaşık 40 yıl içinde apoptozun tüm çok hücreli canlılarda önemli ölçüde korunan ve hem temel adımlar, hem de uygulayıcı proteinlerdeki özdeş yapılar açısından birbirine benzeyen genetik bir yolla belirlendiği saptanmıştır. Apoptoz temel olarak iki yolla başlatılır: 1) hücre dışından tetiklenen, pozitif (TNF  $\alpha$  varlığı) ya da negatif (büyüme faktörü yokluğu) ekstrinsek yol 2) hücre içinde DNA hasarı, endoplazmik retikulum stresi ya da mitokondriden tetiklenen intrinsek yol. Mitokondri aracılığıyla düzenlenen hücre içi yol aslında hücre dışı ve hücre içi etkenlerin ortaklaştığı bir mekanizma oluşturur

İster hücre içi, isterse hücre dışı mekanizmayla başlamış olsun, apoptotik süreç kaspazlar adı verilen proteolitik enzimler tarafından gerçekleştirilir. Kaspazlar, bugüne dek bir düzine farklı türü tanımlanan, sitoplazmada inaktif proenzimler halinde bulunan, aktif katalitik bölgesinde sistein içeren ve substratlarını aspartat içeren özgül bir bölgeden kesen proteaz enzimlerdir (**caspase**=cysteine-dependent **aspartate** spesifik proteases).

## Hücre dışı Uyarılarla Apoptozun Tetiklenmesi

### Ölüm reseptörleri ve apoptoz

Apoptoz, ölüm reseptörleri adı verilen birbiriyle yapısal olarak akraba olan birkaç reseptör tarafından aktif olarak uyarılır. En iyi bilinen örnekleri TNF  $\alpha$  ve Fas reseptörleridir. Ölüm reseptörleri hücre zarı içine tutunmuş, bir ucu hücre dışına, bir ucu hücre içine bakan, hücre içi tarafında prokaspaz 8 in aktiflenmesini sağlayan bir ölüm bölgesi (death domain) bulunan reseptörlerdir. Hücre zarında bulunan kendileri için özgün reseptörlere

**Tablo 1:** Apoptoz ve nekrozla ölüm arasındaki temel farklar. TNF, tümör nekrozis faktörü; ER, endoplazmik retikulum

	Apoptoz	Nekroz
<b>Morfolojik özellikler</b>	Küçülme, çekirdekte kromatin yoğunlaşması, Tomurcuklanmayla apoptotik cisimlerin oluşması, komşu hücreler tarafından fagosite edilme	Şişme, hücre geçirgenliğinin hızla artması ve blebleşme, hücre içeriğinin dış ortama dağılması
<b>Tetikleyen mekanizmalar</b>	Hücre dışından (TNF $\alpha$ , büyüme faktör eksikliği, antikanserojen ilaçlar, oksidatif stres, DNA hasarı) Hücre içinden (mitokondri, ER)	Ani toksik etki sonucu zar geçirgenliğinin çok büyük ölçüde bozulması
<b>Biyokimyasal değişimler</b>	Hücre içinde proteolitik enzimlerin aktivasyonu, hücre içi proteinlerin ve DNA'nın yıkımı (kaspaz ve DNaz aktivasyonu),	Hücrede çok hızlı bir enerji yetmezliği ya da toksik etki sonucu zar geçirgenliğinin hızla artmasıyla osmotik dengenin bozulması, hücrenin patlaması
<b>Sonuçları</b>	Apoptoza uğrayan hücrenin inflamasyon oluşturmaksızın ortamdaki temizlenmesi	Hücre içi maddelerin dağılmasıyla oluşan inflamasyon

bağlanan ligandlar reseptörün trimerik (üç bileşenden oluşan) bir yapıya dönüşmesine yol açarlar ve hücre içinde adaptör moleküller adı verilen bir dizi molekülle etkileşerek prokaspaz 8 i iki farklı büyüklükte parçaya böler. Başlatıcı kaspaz denen aktif kaspaz 8, inaktif durumdaki proenzimler olan kaspaz 3, kaspaz 6 ve kaspaz 7 nin bir zincir biçiminde aktiflenmesine yol açar. Aktiflenen tüm kaspazlar hücre makromoleküllerini parçalayarak tipik apoptoz morfolojisinin oluşumuna yol açarlar.<sup>6</sup>

Aktif kaspaz 8, Bcl-2 ailesi proteinlerinden biri olan Bid in de proteolitik olarak aktifleşmesine yol açar. Bid, mitokondriden sitokrom c, bazı başka proteinlerin (SMAC) ve kalsiyumun serbestleşmesine yol açar. Böylece ölüm reseptörleri yolu mitokondriyal yolu da aktiflemiş olur.

Hücreye sitotoksik T reseptörleri yoluyla ulaşan Fas ligandı, ya da TNF alfa, hücre yüzeyinde bulunan kendine özgü reseptörlerine bağlanarak apoptozu uyarabilir. Fas reseptörünün ligandı aktiflenmiş T lenfositlerde ayrıca dalak, testis, karaciğer ve böbrek hücrelerinin yüzeyinde ifade edilir.<sup>20</sup> Çeşitli virüslerle infekte hücrelerde ya da p53 ün aktiflenmesi sonucu Fas reseptörünün ifadesi, o hücrenin sitotoksik T lenfositler tarafından öldürülmesini sağlar. FAS ve TNF alfa dışında TRAIL ve TRAIL reseptörleri de hücre içinde benzer yollarla ölümü uyarabilir. TRAIL reseptörlerinin FAS reseptöründen farklı olarak karaciğer, nöronlar, miyositler, kolon, bronş epitel, Leydig hücreleri gibi dokularda yapısal biçimde ifade edildiği ve TRAIL in de bu dokularda bulunduğu gösterilmiştir.<sup>19</sup>

Hücre dışından gelen sinyallerin hücre içinde apoptotik makineyi çalıştırmasına aracılık eden yollardan biri de sfingolipid yoludur. Sfingomiyelin, hücre zarının yapıtaşlarından biridir. Radyasyon ve kemoterapinin yanısıra ölüm reseptörleri aracılığıyla da aktiflenebilen bir enzim olan sfingomiyelinaz tarafından seramid'e dönüştürülür. Seramid, ayrıca serin palmitol transferaz tarafından da sentezlenebilir. Seramid ve seramidaz enzimiyle seramidten oluşturulan sfingozin, Bid yapımını değişik yollarla artırarak mitokondriyal yol üzerinden apoptozu tetikler.<sup>21</sup>

## Hücre İçi Apoptotik Yollar

Mitokondri, hücre içinde ATP üretiminin kaynağı olmasının yanı sıra, hücre içi ya da dışı yollardan gelen ölüm sinyallerinin üzerinde birleştiği bir organdır. Mitokondri iç ve dış zarla çevrili yapıdadır, bu zarlar tıpkı hücre zarında olduğu gibi bir zar potansiyeline sahiptir. Dış zar geçirgenliğinde artış sonucu mitokondri zarı potansiyelinin bozulması dış zarda hızlı bir şişmeyi izleyerek iki zar arasında bulunan çeşitli proteinlerin hücre sitoplazmasına çıkmasına yol açar. Bu kaçış, ya zarda oluşan permeability transition pore aracılığıyla ya da dış zarın patlamasıyla oluşabilir. Temel olarak mitokondrideki solunum zincirinde yer alan bir enzim olan sitokrom c, apoptoz indükleyici faktör (AİF), SMAC ve ENDO G adlı DNaz enzim, sitoplazmaya dağılır. Sitokrom c, sitoplazmada inaktif monomerler halinde bulunan Apaf-1 (apoptotik proteaz aktive eden faktör) molekülüne bağlanarak apoptozom adı verilen yapının oluşumunu sağlar (18). Apoptozom, kaspaz 9 u aktifleştirmek üzere keser, kaspaz

9, diğer kaspazları proteolitik bir zincir halinde aktifleştirerek apoptozun gerçekleşmesini sağlar (Şekil 2).

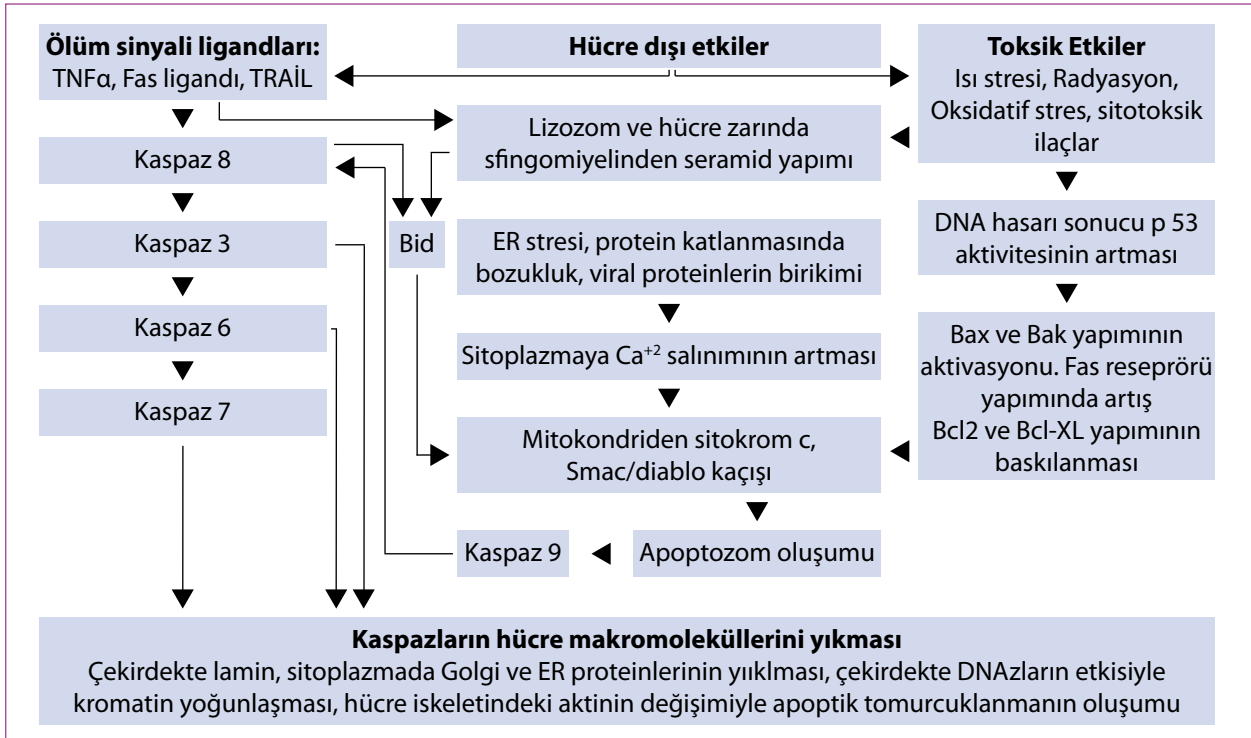
Mitokondride dış zar potansiyelinin değişmesi Bcl-2 ailesi adı verilen bir protein grubu tarafından düzenlenir. Hücrede antiapoptotik aile üyeleri olan Bcl-2, Bcl-x, yine aynı ailenin üyeleri olan Bad, Bim, Bmf, Bid ve BH-3 only proteinleri gibi proapoptotik proteinler tarafından baskılanır. Ailenin proapoptotik üyeleri normal koşullarda inaktif durumdadır, bu nedenle mitokondriyal zar geçirgenliği Bcl-2 ve benzerlerinin etkisi sayesinde değişmez. Ancak çeşitli uyarılar (büyüme faktörünün uzaklaştırılması Bad'ın, kalsiyum artışı Bim'in, UV ışın Bmf'nin) proapoptotik grubun aktifleşmesine yol açarlar, sonuçta Bcl-2, proapoptotik aile üyeleri tarafından baskılanır, Bcl-2 tarafından inaktif durumda tutulan ve yine aynı aileden olan Bak ve Bax proteinleri etkinleşerek mitokondri dış zarında permeability transition pore ların oluşumuna, zar potansiyelinin değişimine yol açar. Bu da uygulamacı kaspazların aktivasyonu ve apoptozla sonuçlanır. Kaspazlar inhibitör apoptoz proteinleri (İAP) denen bir grup protein tarafından baskılanır.

Endoplazmik retikulum (ER) da, apoptotik süreci başlatabilen organellerden diğeridir. Protein katlanmasında temel bir işlev yapan ER da bu katlama işlevi bozulduğunda, katlanmamış proteinlerin yol açtığı bir stres ortaya çıkar (Xu 2005). Bu stresin aşırı olması ya da uzaması, proteaz ve kinazların doğrudan aktivasyonu ve hücre içi kalsiyumun artışıyla mitokondriyal yolu aktive eden bir etki oluşturur.<sup>24</sup>

ER ile mitokondri arasında yer değiştirerek hücre içinde çok düşük bir derişimde tutulan kalsiyumun da önemli bir apoptotik düzenleyici olduğunu gösteren bulgular vardır. Hücre içinde ER depolarında kalsiyum düzeyi düşüğe seramid, oksidatif stres gibi apoptotik uyarılar ölümüne yol açmamaktadır. Çalışmalar ER den salınan kalsiyumun mitokondride düzeyinin arttığını ve bunun da mitokondriyal apoptotik yolu uyardığını düşündürmektedir.<sup>5</sup>

p53, DNA gardiyanı da denen ve bu güne dek üzerinde en çok çalışılan tümör süpresör proteinlerden biridir. p 53 sitoplazmada bulunan ve DNA nın ya da hücrenin ağır biçimde hasar görmesi durumunda, DNA da belli genlerin aktivasyonuna, böylece yapılarının artmasına (Bax, Apaf-1, Fas) belli genlerin de baskılanmasına (Bcl-2, Bcl-X) yol açarak apoptozu tetikleyen bir transkripsiyon faktörüdür. DNA hasarı, hipoksi ya da onkogenlerin aktivasyonu, sürekli yapılan ama ubikitinleyici bir protein (mdm2) tarafından belli bir hızda yıkılan p53 ün fosforillenmesine, fosforillenme ubikitinlemenin bozulmasına yol açar. Miktarı artan p53 çekirdeğe geçerek ilgili genlerin ifade edilmelerini değiştirerek hücreyi apoptozu sokar.<sup>10</sup>

Yukarıda belirtilen yollarla aktiflenen kaspazlar hücre iskeletinin bileşenleri olan aktin, miyozin, spektrin gibi proteinleri keserek apoptozun ilk döneminde gözlenen morfolojik bulgular olan hücrenin küçülmesi ve yapıştığı ortamdan ayrılması sonucunu verir. Aktin ve miyozinin



**Şekil 2:** Hücre içi ve hücre dışı yollarla uyarılan apoptozun biyokimyası

etkileşimi, hücrenin zarla sarılı tomurcuklar halinde kopuşuna yol açar. Kaspazlar çekirdek laminasını parçalar, endojen DNAz lar ise DNA yı 200 ya da 200 ün katları baz çiftlik parçalar halinde keser. Bu nedenle apoptotik hücrelerin DNA sı jel elektroforezinde 200 ve katı olan baz parçaları halinde sıralanır, buna merdiven kalıbı (ladder pattern) adı verilir. Transkripsiyon faktörleri gibi proteinler, ribozomlar, RNA, Golgi ve endoplazmik retikulum gibi tüm organeller parçalanır.<sup>22</sup> Mitokondri zar potansiyelinin bozulmasının hemen ardından normal hücrede çift tabakalı hücre zarının dış katında bulunmayan bir fosfolipid olan fosfatidilserin dış yaprağa geçer ve oksitlenir. Bu değişim apoptotik hücrelerin makrofajlar ya da komşu hücreler tarafından fagosite edilmesi için bir sinyal oluşturur. Zarla sarılı apoptotik cisimlerin fagositozuyla apoptotik süreç tamamlanmış olur.

## Apoptozu Belirlemek için Kullanılan Laboratuvar Yöntemleri

Apoptotik yolla hücre ölümünü belirlemede kullanılan temel yaklaşımlar biyokimyasal ya da morfolojik değişiklikleri yakalamayı hedefler. Bu yöntemlerin en sık kullanılanları arasında DNAzların etkisiyle kırılan DNA uçlarının boyanması, jel elektroforezinde 200 bç ya da katları biçimindeki kırılmanın gösterilmesi (merdiven kalıbı), hücre dış zarında ifade edilen fosfatidilserinin aneksin 5 isimli bir proteinle floresan ya da stabil bir boyayla boyanması, hücre lizatları ya da plazma gibi hücre dışı vücut sıvılarında sitokrom c miktarının ölçülmesi sayılabilir. Bu konuda kullanılan tüm yöntemleri derleyen ve karşılaştıran bir makale yayınlanmıştır.<sup>9</sup>

## Fizyopatoloji ve Apoptoz

### Kanser ve apoptoz

Hücrelerin normal apoptotik süreçten kaçmalarını sağlayan bir özellik kazanmaları hemen bütün kanser hücrelerinde gözlenen bir özelliktir. Tümör hücreleri ya antiapoptotik proteinlerin aşırı yapımıyla ya da proapoptotik proteinlerin yapımının ya da etkilerinin azalmasıyla apoptoza dirençli bir nitelik kazanırlar. Örneğin foliküler B hücreli lenfomada kromozomal bir yer değiştirme sonucu Bcl-2 proteininin yapımı artmaktadır. p53 yoluyla başlatılan apoptoz yolundaki proteinlerin yapımları ya da işlevlerindeki bozuklukların insanlardaki kanserlerin neredeyse yarısında etkili olduğu gösterilmiştir.<sup>7</sup> Apaf-1 in metastatik melanom hücrelerinde yapımının olmadığı gösterilmiştir. Bazı kanser türlerinde (hepatosellüler karsinom, melanomlar) ölüm reseptörlerinden biri olan CD95 in yapımının azaldığı bulunmuştur.<sup>15</sup> Kanserleşme ve apoptoz düzenlemesinin bozulması arasındaki ilişki kemoterapötiklere ya da radyasyona direnç oluşturarak da klinik tıbbi ilgilendiren sonuçlara yol açabilmektedir.

### Nörodejeneratif hastalıklar

Alzheimer, Parkinson, Huntington koresi ve amiyotrofik lateral skleroz gibi bazı nörodejeneratif hastalıklarda hatalı protein üretimi, oksijen radikali yapımında artış, hücre içi kalsiyum artışı gibi mekanizmalarla nöron kaybına sonuçta apoptozun yol açtığı gösterilmiştir.<sup>2</sup> FAS reseptörü ifadesinin yukarıda sayılan hastalıkların tümünde artmış olduğu bildirilmektedir.<sup>15</sup>

### İmmün sistem ve apoptoz

İmmün sistemde bedenin kendi proteinlerine yanıt veren lenfositlerin ortadan kaldırılarak otoimmünitenin engellenmesi apoptotik yolla düzenlenen bir süreçtir.<sup>7</sup>

T lenfositlerin kendi antijenlerine yanıt veren gruplarının apoptozla ölmesi (negatif seçim) konusundaki bulgular net ancak apoptotik sinyal mekanizmasının ne olduğu ve otoimmün hastalıklarda nasıl bozulmuş olabileceği konusundaki bulgular çelişkilidir. Fas mutasyonları Lupus eritematosusda ve romatoid artritte belirlenmiştir. Öte yandan apoptozla ölen hücrelerin fagositozunda sorun bulunması da otoantijenlerin dendritik hücreler tarafından sunulmasına yol açarak otoimmün hastalıkların gelişimine katkıda bulunabilmektedir. Otoimmün hastalıklar açısından apoptozun ikinci temel önemi, örneğin pankreas B adacık hücrelerine saldıran T lenfositlerin bu hücrelerde apoptozla ölüme yol açmasıdır.

Klonal olarak aktiflenen T lenfositlerin sayılarının immün yanıtın işlevini tamamlamasıyla tekrar azaltılması sürecinde aktivasyonla uyarılan hücre ölümü mekanizması devreye girer ve Fas ligandını taşıyan T hücreleri Fas reseptörüne bağlandıklarında kendileri de ölür. Fas ligandı ya da reseptörü genlerinde mutasyon olan farelerde lenfadenopati, SLE benzeri bulgular, eklem inflamasyonu görülmektedir.<sup>25</sup>

Apoptoz AIDS hastalığı fizyopatolojisinde de temel bir rol oynar. HIV virüsü, mitokondriyal zarıda geçirgenlik değişikliğine yol açarak enfekte ettiği hücrelerin ölümüne yol açar.<sup>13</sup>

## Sepsis ve apoptoz

Sepsis mortalitesi yüksek klinik bir sorundur. Sepsisin başlangıç döneminde bazı bakteriyel toksinlerin konağın bağışıklık hücrelerinde, örneğin lökosit ve T lenfositlerde apoptozu hızlı ve etkili biçimde uyararak bağışıklık felcine yol açtığı bilinmektedir. Sepsisin ikinci aşamasında ise konağın kendi makrofajlarından salınan proinflamatuar medyatörlerin dendritik hücreler, barsak, akciğer ve karaciğer epitelyum hücrelerinde apoptoza yol açtığı belirlenmiştir. Apoptotik süreç temel olarak Fas-Fas ligandı ya da mitokondriyal yol aracılığıyla gerçekleşmektedir. Anti-apoptotik maddelerin deneysel sepsis modelinde olumlu sonuçları gözlenmiştir.<sup>3</sup>

## İskemi-Reperfüzyon hasarı

Miyokard infarktüsü ve inme gibi iskemik durumlarda hücre ölümünün bir bölümü nekrozla oluşur ancak önemli ölçüde hücre de apoptotik yolla ölür. Böbrek, barsak, karaciğer ve MSS dokularında iskemi-reperfüzyon hasarıyla apoptoz arasındaki ilişki hayvan modellerinde çalışılmış, kalpte iskemi reperfüzyon hasarında Fas reseptörünün miyokard hasarında etkili olduğu gösterilmiştir.<sup>14</sup>

## Tedavide Apoptoz Temelli Yaklaşımlar

Hastalığa yol açan yanıtın apoptoz azlığı ya da fazlalığı olmasına bağlı olarak yukarıda özetlenen biyokimyasal yollarda yer alan her bir etken tedavi hedefi olabilir. Dejeneratif hastalıklarda apoptozun önlenmesi, kanserde ise mitokondriyal, p53 ya da ölüm reseptörleri yoluyla apoptozun indüklenmesi için çok sayıda yeni tedavi yaklaşımı bulunmaktadır.

Tek başına ya da kemoterapiye destek olarak kullanılabilen TNF alfa, sepsise benzer bulgulara ve ağır karaciğer toksisitesine yol açtığı sıçan deneylerinde gösterildiği için kullanılamamaktadır. Ancak tümör hücrelerinde özgül etkisi olan ve sistemik etkisi olmayan TRAIL in hayvan modellerinde insan tümör transplantları için başarılı sonuçlar verdiği gözlenmektedir. TNF reseptör antagonistlerinin ise romatoid artrit ve Chron hastalığında FDA tarafından onaylı olarak kullanımına başlanmıştır.

Biyokimyasal olarak farklı noktalarda etkili kaspaz inhibitörleri ya da aktivatörleri de tedavide kullanım amacıyla denetlenmektedir. Kaspaz inhibitörleri iskemi-reperfüzyon hasarına karşı örneğin miyokard infarktüsü, sepsis, inme, gibi hastalıklarda ya da Huntington hastalığı gibi nörodejeneratif durumlarda denetlenmektedir. Aktivatörler ise tümör hücrelerinde apoptozu uyarmak amacıyla denetlenmektedir. Bu ilaçların büyük bölümü klinik öncesi deneme aşamalarındadır.

İAP (inhibitör apoptotik proteinler) de büyük bölümü klinik öncesi çalışma döneminde olan çeşitli maddelerin hedefi olarak özellikle kanser türlerinde proapoptotik etkiyi sağlayabilmek amacıyla denetlenmektedir.

Bcl-2 ailesi proteinleri üzerinde etkisi araştırılan maddelerden Genasense, melanom, multipl miyelom, kronik lenfositik lösemi ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde Faz 3 aşamasında araştırılmaktadır. Bcl-2 ailesi üzerinde yapılan çalışmalar anti apoptotik aile üyelerini baskılamak üzerinde yoğunlaşmıştır.

Mitokondride permeabilite değişimi üzerine etkili olacak ilaçlar da temel olarak apoptozu uyaran yolu aktive etme hedefiyle araştırılmaktadır. Bunlardan mitokondri zarında geçirgenliği doğrudan artıran Cladribin ve mitokondri zarında oksidatif bozulmaya yol açan Arsenit, lösemi türlerinde denemek üzere onaylanmıştır.

p53 ün işlevini düzeltmek için geliştirilen tedavi yaklaşımları arasında p53 ifade eden adenovirüs tedavileri, faz 3 aşamasında bulunmaktadır. P53 işlevini düzeltmek için kullanılan diğer yaklaşımlar arasında mdm2 nin baskılanması, mutant p53 ün işlevsel biçime dönmesinin sağlanması ve yapımının artırılması hedeflenmektedir. Bu maddeler henüz klinik öncesi aşamada denetlenmektedir.

Yukarıdaki başlıklarda değinilen apoptoz temelli tedavilerin ayrıntıları ve FDA onay aşamaları için bkz: 8, 11, 1.

Radyasyon hasarının yol açtığı apoptotik yolla hücre ölümünün ince barsak epitelinde PGE2 ile önlenemediği deneysel olarak gösterilmiştir.<sup>12</sup>

Apoptozdan korunma (iskemik hasar, radyasyonun zararlı etkilerini önleme, nörodejeneratif ve otoimmün hastalıklar için) ya da apoptozun uyarılması (kanseri tedavisi) başarılı sonuçların alınması açısından umut verici gelişmelere açık ve üzerinde yoğun biçimde çalışılan, moleküler hücre fizyolojisi ile klinik tıbbi birbirine bağlayan yeni bir alandır.

**Proteaz:** Proteinleri parçalayan enzimler

**TNF \_:** Tümör nekrozis faktörü alfa. Makrofajlardan immün uyarılara yanıt olarak sentezlenen bir protein.

**FasL:** Fas reseptörünün ligandı. Ligand sitotoksik T hücrelerinin zarında, reseptörü hedef hücre yüzeyinde bulunur.

**TRAIL:** TNF related apoptosis inducing ligand. TRAIL R1, TRAIL R2 ve TRAIL R3 olarak üç tür reseptörü bulunur

**SMAC:** Second mitochondrial activator of caspases. Mitokondriden salınan ikinci kaspaz aktivatörü.

**Endonükleaz D:** Mitokondriden açığa çıkan ve çekirdekte DNA yı parçalayan enzim

**Bcl-2:** Mitokondrideki etkileriyle proapoptotik ya da anti-apoptotik etkileri olan, ilk kez B cell lymphoma hücrelerinden izole edilmesi nedeniyle bu kısaltma ile anılan bir gen ve protein grubu. Bu gruptaki Bcl-2 ve Bcl-XL antiapoptotik, Bax ve Bak proapoptotik etkilidir.

**AIF:** Apoptoz indükleyici faktör.

**İAP:** İnhibitör Apoptoz proteinleri.

**BH-3 only:** Sadece BH-3 homoloji bölgesini içeren Bcl-2 ailesi proteini

**Ubikitin-leyici:** Hatalı üretilen ya da yıkılması gereken proteinlere bağlanarak lizozomla-ra taşınmasını sağlayan ubikitinlerin ilgili proteine bağlanma-sını sağlayan enzimler

## Kaynaklar

1. Bouchier-Hayes L., Lartigue L., Newmeyer D. : Mitochondria: pharmacological manipulation of cell death. *J Clin Invest* 115 (10): 2640; 2005
2. Bredesen D.,E., Rammohan V.R., Mehlen P.: Cell death in the nervous system. *Nature* 443;19: 796-802; 2006
3. Da Silva F., Nizet V.: Cell death during sepsis: İntegration of disintegration in the inflammatory response to overwhelming infection. *Apoptosis*. 14: 509-521; 2009
4. Degterev A., Yuan J : Expansion and evolution of cell death programmes. *Nature Reviews, Molecular Cell Biology* Vol 9 :378-390 May; 2008
5. Demareux N., Distelhorst C.: Apoptosis-the calcium connection. *Science* 300: 65 4 April ; 2003
6. Elmore S.: Apoptosis: a review of programmed cell death.-*Toxicol Pathol* 2007; 35(4): 495-516
7. Fadeel B., Orrenius S.: Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in human disease. *J Internal Med* 258: 479-517; 2005
8. Fischer U.,Schulze-Osthoff K.: New approaches and therapeutics targeting apoptosis in disease. *Pharmacol Rew* 57: 187-215; 2005
9. Galluzi L., Aaronson S.A., Abrams J. et al: Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes. *Cell Death Differ* 16: 1093-1107; 2006
10. Gewies A. Introduction to apoptosis : <http://www.celldeath.de/encyclo/aporev> <http://www.celldeath.de/encyclo/aporev/aporev.htm>
11. Green D.G., Kroemer G.: Pharmacological manipulation of cell death: clinical application in sight? *J Clin Invest* 115 (10): 2610; 2005
12. Houchen CW, Sturmoski MA, Anant S, et al : Prosurvival and antiapoptotic effects of PGE2 in radiation injury are mediated by EP2 receptor in intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2003 Mar; 284 (3):G490-8.
13. Jakotot E., Ravagnan L., Loeffler M. et al: The HIV-1 viral protein R induces apoptosis via a direct effect on the mitochondrial permeability transition pore. *J Exp Med* 191: 33-45; 2000
14. Jeremias I, Kupatt C., Martin-Villalba A et al : Involvement of CD95/Apo1/Fas in cell death after myocardial ischemia. *Circulation* 102:915-920; 2000
15. Jin Z., El-Deiry W.S: Overview of cell death signalling pathways. *Cancer Biol Ther* 4, 2:139-163; 2005
16. Kerr J.F.R., Wyllie A.H., Currie A.R Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol*. 68:251-306; 1980
17. Kroemer G, Levine B.: Autophagic cell death: the story of a misnomer. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* published online 30 October 2008; doi:10.1038/nrm2529
18. Ow Y-L P., Green R.D., Hao Z., Mak T.W.: Cytochrome c: functions beyond respiration. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* Vol 9 :532-542 July; 2008.
19. Spierings D.C., de Vries E.G., Vellenga E. et al: Tissue distribution of the death ligand TRAIL and its receptors. *J Histochem Cytochem* 52(6): 821-831; 2004
20. Suda T. Nagata S.: Purification and characterisation of the Fas-ligand that Induces Apoptosis *J. Exp. Med.* 179: 873-879 1994
21. Taha TA, Mullen TD, Obeid LM. A house divided: ceramide, sphingosine, and sphingosine-1-phosphate in programmed cell death. *Biochim Biophys Acta*. 1758(12):2027-36. Epub 2006 Nov 1; 2006
22. Taylor R.C., Cullen S.P., Martin S.J : Apoptosis: Controlled demolition at the cellular level. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* Vol 9 :231-241 March; 2008
23. Vaux D.L., Korsmeyer S.J.: Cell death in development. *Cell* 96: 245—254; 1999
24. Xu C., Bailly-Maitre B., Reed J.C.: Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. *J Clin Invest* 115 (10): 2656; 2005
25. Xu G., Shi Y.: Apoptosis signaling pathways and lymphocyte homeostasis. *Cell Research* 17:759-771; 2007