

APOPTOSİS, PROGRAMLI HÜCRE ÖLÜMÜ

Öğr. Gör. Uzm. Nur ÖZTEN KANDAŞ*

ÖZET

Apoptosis bir yüzyıldan fazladır gözlenen ve çalışılan hücre ölüm tipidir. "Programlı hücre ölümü" olarak apoptosis prosesi 1964 yılında tanımlanmıştır ve Yunanca "ağaçtan düşen yaprak veya çiçekten ayrılan petal" anlamına gelen apoptosis terimi 1972 yılında Kerr ve ark. tarafından tanımlanmıştır. Son 30 yıl boyunca, bu hücre ölümü tipi oldukça geniş bir şekilde araştırılmıştır ve bu hücre intiharının altında yatan moleküler mekanizmalar açıklanmıştır. Apoptosis, belli organ ve dokularda eski, fonksiyonel olmayan hücreler ve yenilerinin oluşumu arasındaki doğru bir denge için önemlidir, bir seri patolojik durumlara karşı spesifik bir yanıttır. Bu yüzden, organizmanın hayatı boyunca, vücudundaki fizyolojik ve patolojik olaylarda apoptosis çok önemli bir rol oynar. Normal gelişim ve sağlık sırasındaki hücre ölümünün rolü, bu olayı düzenleyen sinyaller ve hücre ölümünün mekanizmaları bu alandaki araştırmaların temel konularıdır.

Anahtar Kelimeler: Apoptosis, hücre ölümü.

APOPTOSIS, PROGRAMMED CELL DEATH

ABSTRACT

Apoptosis is a type of cell death that has been observed and studied for more than a century. The process of apoptosis was described as "programmed cell death" in 1964, and the term apoptosis, from a Greek word meaning "to fall away from" and describing the fall of dead leaves from trees in autumn, was only coined in 1972 by Kerr and et. al. During the last 30 years, this type of cell death has been extensively investigated and the molecular mechanisms underlying this cell suicide well characterized. Programmed cell death is a major component of both normal development and disease. Apoptosis is important for the right balance between the

loss of old, non-functional cells and the formation of new ones in certain organs and tissues. In addition, it is a specific answer of an organism to a number of pathological conditions. Thus apoptosis plays a very important role both in physiologic and pathologic processes in the body throughout the life of an organism. The roles of cell death during normal development and health, the signals that modulate this event, and the mechanisms of cell demise are the major subjects that drive research in this field.

Key Words: Apoptosis, cell death.

Giriş

Apoptosis yada programlı hücre ölümü çok hücreli canlılarda gelişimin normal komponenti olarak bilinen hücrel bir olaydır. Hücreler çeşitli uyarılara yanıt olarak ölürler ve bunu programlı olarak düzenli bir yol izleyerek yaparlar. Bu durum apoptosisi diğer bir hücre ölümü olarak bilinen nekrozdan farklı kılar. Nekroz olarak bilinen bu hücrel ölüm yolunda hücreler kontrollü olmayarak lizise uğrarlar. Buna bağlı olarak gelişen inflamatuvar yanıtlar ve ciddi problemler sonuçlardır. Apoptosisde buna karşın hücreler kendi ölümleri için aktif rol üstlenirler, diğer bir deyişle hücrel intihar gerçekleşir. Apoptosisin ilk kez "programlı hücre ölümü" şeklinde 1964 yılında tanımlanmıştır. Yunanca "ağaçtan düşen yaprak veya çiçekten ayrılan petal" anlamına gelen apoptosis terimi olarak 1972 yılında Kerr ve ark. tarafından tanımlanmıştır (1).

Bir seri spesifik sinyallere bağlı olarak apoptosise giden hücrelerde biyokimyasal ve morfolojik olarak farklı değişiklikler söz konusudur. Apoptosisin erken dönemlerinde bir protein ailesi olarak bilinen kaspazlar aktive olurlar. Bu proteinler normal hücrel fonksiyonlar için gerekli olan, özellikle hücre iskeleti yapısal proteinleri ve DNA tamirinde

* Ankara Üniversitesi Dikimevi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tıbbi Laboratuvar Programı, Ankara.

rol alan nuklear proteinlerin parçalanmasından sorumludurlar. Aynı zamanda kaspazlar Dnazlar gibi nukleusta DNA'yı parçalayan diğer degrade edici enzimleri aktive ederler (1,2). Bu biyokimyasal değişiklikler sonucunda hücrede bazı morfolojik değişiklikler gözlenir. Tipik olarak hücrede karşılaşılan bu morfolojik değişikliklerin başında hücre sitoplazmasının büzülmeğe başlaması ve bunu takiben aktin filament yapısı ve laminlerin bozulması gözlenir. Kromatin ve nuklear yapısal proteinlerin parçalanması ve buna ek olarak apoptotik hücrelerin nukleusları at nalı şeklinde bir yapı olarak izlenir. Hücreler büzülmeğe devam ederek makrofajlar tarafından kolayca fagosite edilebilmeleri için kendilerini paketlerler ve yine buna bağlı olarak da plazma membranında makrofaj yanıtını tetiklemek için değişiklikler gerçekleşir. Bunlardan bir tanesi fosfatidilserinin hücrenin iç yüzünden dış yüzüne translokasyonudur. Membran değişiklikleri sıklıkla membran kabartıları şeklindedir ve apoptotik süreç sonunda "apoptotik body" denen küçük veziküler yapılar olarak gözlenen morfolojik değişiklikler izlenir (3).

Apoptosisin İndüklenmesi

Hücrelerde apoptosisin indüklenebileceği birçok yol vardır. Bu uyarılardan herhangi birine hücrenin duyarlılığı pro- ve anti-apoptotik proteinlerin ekspresyonu (Bcl-2 proteinler veya apoptosis protein inhibitörleri), uyarının derecesine ve hücre siklusunun aşaması, gibi faktörlere bağlı olarak değişir (4).

Bazı durumlarda apoptotik uyarılar, hücre yüzey reseptörlerine ölüm indükleyici ligandların bağlanması gibi ekstrinsik sinyallerden veya sitotoksik T-lenfositlerle apoptosisin indüksiyonuyla oluşmaktadır. T-hücreleri hasarlı ya da virüsle enfekte hücreleri tanıır ve hasarlı hücreleri neoplastik hücre oluşumundan ya da virüsle enfekte hücrelerle enfeksiyonun yayılmasını önlemek için apoptosisi başlatır (5).

Bazı durumlarda apoptosis hücresel stresi takiben üretilen intrinsik sinyallerle başlatılır. Hücresel stres radyasyon, kimyasallar yada viral enfeksiyona maruziyetle oluşabilir. Büyüme faktörünün yoksunluğu yada oksidatif stresin bir sonucu olarak da hücresel stres meydana gelebilir. Genel olarak intrinsik sinyaller apoptosisi mitokondri aracılığıyla gerçekleştirir (6).

Mitokondrinin Rolü

Hücre ölümünün düzenlenmesinde mitokondri önemli bir rol oynar. Örneğin, Bcl-2 ve Bcl-X_L gibi Bcl-2 protein ailesinin anti-apoptotik üyeleri, mitokondri membranının dış kısmında yer alırlar ve hücre yaşamını devam ettirmeye yönelik olarak çalışırlar. Bad ve Bax gibi Bcl-2 ailesinin pro-apoptotik üyelerinin birçoğu, Bcl-2 ve Bcl-X_L ile ya da mitokondri membranı ile direkt ilişki kurarak mitokondri üzerinden etkilerini gösterirler (4).

Mitokondri apoptosisin gerçekleşmesini sitokrom C salınımıyla sağlar, ve pro-kaspaz 9 ile birlikte Apaf-1 ve ATP bir kompleks oluşturur. Bu kompleks kaspaz 9'un aktivasyonuna ve kaspaz kaskadının başlamasına yol açar (4,5).

Mitokondriden sitokrom C'nin salınımını sağlayan faktörler bilinmemektedir. Bax, ve diğer Bcl-2 proteinleri por-oluşturucu proteinlerle (por-forming proteins) yapısal benzerlikler gösterdikleri için, Bax proteininin mitokondri dış membranında bir transmembran por oluşturabileceği, böylece membran potansiyel kaybı ve sitokrom C ve AIF (apoptosis indükleyici faktör) salınımına yol açabileceği ileri sürülmektedir. Bcl-2 ve Bcl-X_L'nin bu por oluşumunu önlemek üzere görev aldıkları düşünülmektedir. Bax veya Bad proteinlerinin Bcl-2 veya Bcl-X_L ile heterodimerizasyonunun onların koruyucu etkilerini önlediği düşünülmektedir. Aynı zamanda Bax ve Bad gibi bu proteinlerin geniş çapta PT (permeability transition) por oluşumunu ve buna bağlı olarak sitokrom C kaybı ve apoptosisin başlamasını da sağlayabildikleri düşünülmektedir (7,8).

Bcl-2 Proteinleri

Bcl-2 proteinleri apoptosisde yanıt olarak yeralan protein ailesidir.

Bu proteinlerin bazıları (Bcl-2 ve Bcl-X_L gibi) anti-apoptotik, bazıları da (Bad veya Bax gibi) pro-apoptotiktir. Hücrelerin apoptotik uyarıya duyarlılığı pro- ve anti-apoptotik Bcl-2 proteinlerinin arasındaki dengeye bağlıdır. Hücrede pro-apoptotik proteinler fazla olduğunda hücre apoptosise daha duyarlı olurken, anti-apoptotik proteinlerin fazlalığında ise hücre daha az duyarlı olma eğilimindedirler (9).

Pro-apoptotik Bcl-2 proteinleri, hücresel hasar yada stres algılayıcıları olarak görev yaparlar ve sıklıkla sitozol içinde bulunurlar.

Hücrel stres takiben anti-apoptotik proteinlerin yer aldığı mitokondri yüzeyinde yeniden yerleşirler (10). Bu pro-apoptotik ve anti-apoptotik proteinler arasındaki ilişki, anti-apoptotik Bcl-2 proteinlerinin normal fonksiyonunu bozar ve mitokondride por oluşumuna yol açarak sitokrom C'nin ve diğer pro-apoptotik moleküllerin intermembran boşluktan salınımını sağlar. Bu, bir devir şeklinde apoptozom oluşumuna ve kaspaz kaskadının aktivasyonuna yol açar (11).

Nükleer Etkiler

Apoptosisin hücrel anlamda belirleyicilerinden birisi de kromozomal DNA'nın nükleozomal birimler haline parçalanmasıdır. Apoptotik hücrelerin nükleuslarındaki DNA'nın degradasyonu, kaspaz aktivasyonunu takiben birkaç yolla sağlanmaktadır (12).

Kaspazlar için substrat olarak tanımlanan ilk protein poly (ADP-riboz) polimeraz, PARP enzimidir. PARP, DNA hasarı tamirinde, poly (ADP-riboz) sentezlenmesini katalizleme ve DNA zincir kırıklarına bağlanıp nüklear proteinleri modifiye etme görevini üstlenir. PARP proteininin DNA hasarını onarması, kaspaz-3 ile parçalanmasını takiben önlenir (2).

DNA replikasyonu ve tamiri için gerekli diğer bir nüklear enzim DNA topoizomera II dir. Kaspazlar bu enzimi inaktive ederek, DNA hasar oluşumuna yol açarlar (13).

Nükleusun şeklini sağlayan intra-nüklear proteinler laminlerdir. Bu proteinlerin görevleri nüklear membran ve kromatin arasındaki ilişkileri sağlamaktır. Kaspaz 6 proteinleriyle laminlerin degradasyonu sonucunda, kromatin kondensasyonu ve apoptotik hücrelerde çoğunlukla gözlenen nüklear fragmentasyon yapıları izlenmektedir (14).

DNA'nın nükleozomal altbirimler haline fragmente olmasından sorumlu enzim CAD (caspase activated Dnase) dır. Normalde, CAD, inaktif bir kompleks olarak ICAD (CAD inhibitörü, DNA fragmentasyon faktör 45 olarak da bilinir) ile birlikte bulunur. Apoptosis sırasında, ICAD kaspazlarla parçalanır ve CAD serbest kalır. CAD, yüksek spesifik aktiviteli bir Dnaz (Dnaz I ve Dnaz II den daha yüksek) olduğu için nüklear DNA nın hızlı fragmentasyonu gerçekleşir (15).

Nitrik oksit (NO) birçok dokuda yer alan vazodilasyon, nöronal fonksiyon, inflamasyon, ve immün fonksiyon gibi birçok fizyolojik yolu regüle eden önemli bir sinyal molekülüdür. Nitrik oksitin, apoptosis regülasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir. Apoptosisin etkilerinin, NO dozuna ve hücrenin tipine bağlı olarak, hem apoptosisi indükleyebileceği hem de apoptosisten hücreyi koruyabileceği yönünde sonuçlar bulunmaktadır. Nitrik oksitin, lökosit, hepatosit, trofoblast ve endotelial hücreleri içeren birçok hücre tipinde apoptosisi inhibe ettiği gösterilmiştir. Genelde, NO'nin anti-apoptotik etkileri, nitrosilasyon ve kaspaz 3, kaspaz 1 ve kaspaz 8'in içinde bulunduğu birçok kaspazın inaktivasyonu gibi birçok mekanizmayla gerçekleşir. p53 aktivasyonu, heat shock protein 70'in ve Bcl-2, Bcl-XL'in düzenlenmesi, cGMP-bağı protein kinazların aktivasyonuna neden olan cGMP sinyal aktivasyonu ve kaspaz aktivitesi baskılanması diğer mekanizmalardır (16,17). Apoptosis üzerinde NO etkileri genel olarak cGMP bağımlı ya da bağımsız olarak sınıflandırılır. Nitrik oksit, guanilat siklazın hem grubu aracılığıyla cGMP sinyalini aktive edebilme kabiliyetindedir. CGMP'nin üretimi, cGMP bağı protein kinazların aktivasyonuna öncülük eder (18).

KAYNAKLAR

1. Israels LG, Israels ED., Apoptosis Oncologist, 1999; 4(4):332-339.
2. Geske FJ, Gerschenson LE, The biology of apoptosis Hum Pathol, 2001; 32(10):1029-1038.
3. Assuncao Guimaraes C, Linden R. Programmed cell deaths. Apoptosis and alternative deathstyles. Eur J Biochem. 2004; 271(9):1638-50.
4. Smaili S., Hsu Y. et. al. Mitochondria in Ca2+ Signalling and Apoptosis J Bioener and Biomem. 2000; 32(1):35-46.
5. Higami Y, Shimokawa I., Apoptosis in the aging process Cell Tissue Res 2000; 301:125-132.
6. Hornsby PJ. Aging of the human adrenal cortex Ageing Research Reviews 2002; 1:229-242.
7. Suh Y. Cell signaling in aging and apoptosis. Mechanisms of Ageing and Development 2002; 123: 881-890.

8. Palmer AM, Greengrass PM, Cavalla D. The role of mitochondria in apoptosis. *Drug News & Perspectives*, 2000; Vol.13, No.6, 378-384.
9. Sainz RM, Mayo JC, Reiter RJ, Tan DX, Rodriguez C. Apoptosis in primary lymphoid organs with aging *Microsc Res Tech*. 2003; 62(6):524-39.
10. Bernecker OY, Huq F, Heist EK, Podesser BK, Hajjar RJ. Apoptosis in heart failure and the senescent heart *Cardiovasc Toxicol*. 2003; 3(3):183-90.
11. Mayer RJ. From neurodegeneration to neurohomeostasis: the role of ubiquitin *Drug News Perspect*. 2003; 16(2):103-8.
12. Goldspink DF, Burniston JG, Tan LB. Cardiomyocyte death and the ageing and failing heart. *Exp Physiol*. 2003; 88(3):447-58.
13. Degli Esposti M. Mitochondria in apoptosis: past, present and future. *Biochem Soc Trans*. 2004; 32(Pt 3):493-5.
14. Takahashi A, Masuda A, Sun M, Centonze VE, Herman B. Oxidative stress-induced apoptosis is associated with alterations in mitochondrial caspase activity and Bcl-2-dependent alterations in mitochondrial pH (pH_m) *Brain Res Bull*. 2004; 62(6):497-504.
15. Annunziato L, Amoroso S, et al. Apoptosis induced in neuronal cells by oxidative stress: role played by caspases and intracellular calcium ions *Toxicol Lett*. 2003; 139(2-3):125-33.
16. Orrenius S. Mitochondrial regulation of apoptotic cell death. *Toxicol Lett*. 2004; 149(1-3):19-23.
17. International Congress Series, 2002 Nov, 259-272.
18. Bree et. al. Cellular longevity: role of apoptosis and replicative senescence *Biogerontology* 2002; 3:195-206.