

Apoptozisin Önemi

Sibel Öktem, Mustafa H. Özhan, Duygu Özol

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir

ÖZET

Apoptozis, embriyo döneminden ölüme kadar pek çok fizyolojik veya patolojik olayda izlenen programlı hücre ölümüdür. Hücre ölümü sürecinde, hücre yüzeyinde, yüzey organellerinde ve nükleusta çeşitli değişiklikler izlenir. Bu derlemede, apoptozis genel olarak tanımlanmış ve kanser, otoimmün hastalıklar, AIDS gibi hastalıklarda apoptozisin yerine değinilmiştir.

Anahtar sözcükler: Apoptozis, apoptotik hücre, apoptotik indeks.

Toraks Dergisi, 2001;2(1):91-95

ABSTRACT

The Importance of Apoptosis

Apoptosis is a process of programmed cell death that plays a critical role in some normal and pathologic conditions beginning from embryologic development and ends at death. Apoptosis is initiated by morphological changes at the cell membrane, surface organelles and nucleus. This review deals with the general aspects of apoptosis and provides some information on its role in some diseases like AIDS, lung cancer and auto-immune disorders.

Key words: Apoptosis, apoptotic cell, apoptotic index

Apoptozis; gelişmiş organizmalarda hücreler arası ilişkilerin gereği olarak gereksinim duyulmayan ve fonksiyonları bozulan hücrelerin, çevreye zarar vermeden programlı ölümüdür. Embriyo döneminden başlayarak tüm yaşam boyunca apoptotik mekanizma ve programlı hücre ölümü vardır. Bazı hücreler yıllarca yaşarken bir kısmı sadece birkaç saat yaşarlar. Deri, gastrointestinal sistem ve immün sistem gibi pek çok dokuda devamlılık apoptozis ve hücre yenilenmesine bağlıdır [1].

Hücre ölümüyle ilgili ilk bilgiler 1920 yılında ışık mikroskopunun ve yeni boya yöntemlerinin keşfiyle başlamış ve ilk olarak nekroz tanımlanmıştır. 1972 yılında, iskemiye maruz kalan dokunun etrafında nekrozdan daha farklı hücre ölümü gösterilmiş ve buna, ağaç yapraklarının gövdeden ayrılması anlamına gelen "apoptozis" adı verilmiştir [1].

Apoptozisin morfolojisi

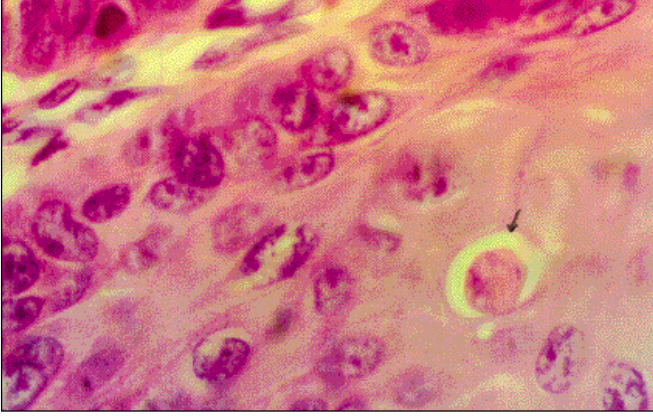
Apoptoziste ana morfolojik olay, nükleusun kondensasyonu ve daha sonra parçalara ayrılmasıdır. Kromatin, normalde

mikst kondens bir yapıda olup daha diffüz görünümündedir. Apoptoziste süperkondens bir hal alarak nükleus zarı altında kresentik görünüm oluşur. Floresan boyamada DNA boncuklanmalar şeklinde görülür, bunun nedeni DNA'nın endonükleaz ile oldukça özgül şekilde internükleozomal bölgelerden 180-200 bp (baz çifti) büyüklüğünde parçalara ayrılmasıdır [2]. İmmün elektroforez yapıldığında "ladder patern" olarak isimlendirilen merdiven şeklinde bir görünüm oluşur [3]. Normalde bir hücrede birbirini takip eden 7 kırılma anılırken, apoptoziste yaklaşık 300 000 kırılma meydana gelir ve hücre onarımı yapılamaz.

Apoptozisin erken evresinde hücreler birleşme bölgelerinden ayrılır, özelleşmiş yüzey organellerini kaybeder ve belirgin şekilde büzülür, birkaç dakikada hacimlerinin 1/3'ünü kaybederler. Bu görünüm, muhtemelen plazma membranında bulunan iyon kanalları ve pompalarında aktivasyonun bozulmasına bağlıdır. Apoptotik hücrelerin bulunduğu dokulardan elde edilen kesitler ışık mikroskopunda incelendiğinde, hücreler, etrafında açık bir halo ile görülmektedir (Resim 1).

Daha sonra plazma membranında tomurcuklanmalar oluşur ve hücre, sitoplazma ile çevrilmiş kromatin parçalarından oluşan apoptotik cisimciklere parçalanır. Hücre henüz

Yazışma Adresi: Doç. Dr. Sibel Öktem
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı,
İzmir



Resim 1. Epidermiste apoptozis: Mikroskopik olarak tanımlanan apoptotik hücre büzülmüş, etrafında belirgin halo oluşmuş; kromatin, nükleus membranı altında yoğunlaşarak değişik boyut ve biçimde sınırları belirgin, yoğun kitleler haline gelmiştir.

yaşamaya devam etmektedir [4].

Apoptotik hücreler komşu hücreler ve makrofajlar tarafından tanınır ve fagosite edilir. Apoptotik hücrelerin tanınması, plazma membranındaki değişikliklerle olur. Normalde hücre membranının iç tabakasında olan fosfatidil serin, aminofosfolipid transferaz enzimiyle membranın dış yaprağına göç eder. Fagositik hücrelerin vitronektin, lektin özelliğindeki reseptörleri fosfatidil serin ile bağlanır ve fagositozu uyarır [1].

Apoptozisle nekroz arasındaki farklar nelerdir?

Diğer bir hücre ölüm şekli olan nekroz ise hipoksi, fiziksel hasar, hipertermi, kompleman aktivasyonu, UV ışık gibi zararlı hücre dışı uyarılar sonucu oluşan istenmeyen bir sü-

reçtir. Hücre plazma membran lipidlerinin peroksidasyonu sonucu hücre içeriği ortama dökülür, inflamatuvar yanıt oluşur ve komşu hücreler de etkilenir (Tablo 1) [5].

Apoptozis mekanizmaları

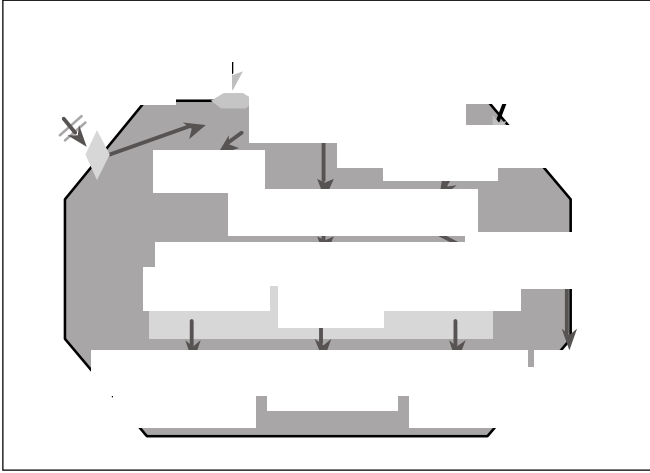
Programlı hücre ölümünde birbirini izleyen basamakların neler olduğu tam olarak bilinmemektedir. Hücrenin kendi otomatik saati olan genlerin aktivasyonu veya çevreden gelen sinyallerle apoptozis başlamaktadır. 1986 yılında Wyllie, glukokortikoid verilen kemirgenlerde timus timositlerinin apoptozisle öldüğünü göstermiştir.

Apoptozis önceden hazır olan hücrelerde (primer) başlatılabilir ya da bir uyarı sonucu sekonder olarak gelişir. Hücre dışı uyarılar tümör nekroz faktörü (TNF), koloni uyarıcı faktörler (CSF), nöron büyüme faktörü (NGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), IL-2 gibi maddelerin ortamda azalması, glukokortikoidler, radyasyon, ilaçlar, çeşitli antijenler gibi pozitif uyarılar olabilir. Özellikle son zamanlarda otoimmün hastalık gelişiminde rolü olduğu belirtilen Fas/FasL, sFas proteinleri, virüsler (HIV gp120 proteini, influenza virüsü TNF reseptörü üzerinden; adenovirus hücre genetik yapısını bozarak) hücreyi apoptozise götürmektedir.

Uyarılar, hücre içinde Ca^{+2} artışına neden olmakta ve/veya cAMP gibi hücre içi ikincil habercileri aktive etmektedir. Bu da "cascade" olarak isimlendirilen ve tam olarak açıklanamayan "şelale" sistemiyle hücre yapısında değişikliklere neden olan pek çok basamağı uyarmaktadır. Örneğin; sitoplazmik Ca^{+2} miktarında hafif artış c-fas, c-myc ve sıcak şoku proteini gibi yeni mRNA basamaklarını harekete geçirir. Ayrıca, apoptoziste etkili endonükleaz, transglutaminaz gibi enzimleri de aktive eder. Bunlar da, kromatinde parçalanmaya, hücre

Tablo 1: Apoptozis ile nekroz arasındaki farklar		
Özellik	Nekroz	Apoptozis
Dağılım	Komşu hücre grupları	Dokuda tek tek hücreler
Nedenler	Her zaman patolojik	Fizyolojik / patolojik
Eksüdatif yangı	Genellikle var	Yok, ± hücrel immünitede
Işık mikroskopi	Bazofili, piknoz karyoreksis, karyolizis,	Kresentik görünüm eozinofilik partikül
Elektron mikroskopi	Hücrede şişme, membranda yırtılma, kromatinde erime, kayıp	Volüm kaybı, apoptotik cisimcikler
Fagositoz	Mononükleer hücreler	Fagositik hücreler ve komşu
Mekanizma	Kimyasal ya da yapısal parçalanma	Makromolekül sentezini gerektiren aktif hücrel yıkım

iskeletinde ve sitoplazmik proteinlerde değişikliklere neden olur (Şekil 1). Sitoplazmik kalsiyum, kalmodulin ile bağla-



Şekil 1. Apoptozis mekanizmaları [6].

nırsa apoptozis inhibe edilebilir [6].

Hücre içinde kendi kendini uyarıcı basamaklar sistemi, *Coenorhabditis elegans* isimli bir nematod yapısında gösterilmeye çalışılmıştır. Erişkin hermofroditin oluşumu sırasında gelişen 1090 hücreden 131'i apoptozis ile ortadan kalkar. Bu oluşum üç gen tarafından kontrol edilmektedir. Ced 3 bir sistein proteazdır ve Ced 4 tarafından aktive edildiğinde hücreyi apoptozise götürür. İnsan vücudunda Ced 3'ün homoloğu, interlökin 1 dönüştürücü enzim benzeri (ICE) gendir. Ced 4, Ced 9'a bağlandığında, hücre yaşamaya devam etmektedir. İnsan vücudunda Ced 9 ile aynı olan gen *bcl-2*'dir [1,7,8]. Organizmada apoptozisi uyarıcı ve engelleyen çok sayıda gen bulunmaktadır (Tablo 2).

Apoptozis nerelerde görülür?

Embriyogenez sırasında bazı canlılarda parmaklar arasındaki perdenin ve damak füzyonu sonrası kalıntı epitel hücre-

lerin ortadan kaldırılmasında olduğu gibi, organogenez sırasında apoptozis, fazla üretilen hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlamaktadır.

Apoptozisin homeostazis içindeki yeri:

1. Metamorfoza uğramış veya yaşlanmış ve bu nedenle fonksiyonlarını kaybetmiş hücrelerin ortadan kaldırılması,
2. Hormona bağımlı involüsyon (örn., prostat, endometrium ve meme dokusu hücrelerinde)
3. Sürekli çoğalan hücre gruplarının azaltılması (örn., gastrointestinal sistem hücreleri, deri v.b.),
4. İmmün hücrelerin seçimi (örn., sitokin depleksiyonundan sonra B ve T lenfositlerin ve timusta otoreaktif hücrelerin ortadan kaldırılması).

Apoptozisin patolojik süreçlerdeki rolü ise:

1. Tümörlerde, hem büyüme hem de regresyonda hücre ölümü (kemoterapi, radyoterapi, hormon tedavisiyle ve spontan regresyonda),
2. Hormona bağımlı dokularda patolojik atrofi,
3. Parenkimatöz organlarda duktus tıkanmasına bağlı patolojik atrofi (örn., karaciğer),
4. Sitotoksik T lenfositleri ile oluşturulan hücre ölümü,
5. Bazı viral hastalıklarda hücre ölümü (örn., HIV-1, HCV, Adenovirüs enfeksiyonlarında),
6. Çeşitli zedeleyici etkenlerle oluşan hücre ölümü (hipertermi, radyasyon, sitotoksik kemoterapi, hipoksi gibi nekroz oluşturan etkenler) [1,3,4].

Kanser gelişiminde ve akciğer kanserinde apoptozis

B hücreli lenfomada olduğu gibi bazı tümörlerde apoptozis azalması, tümör gelişimine neden olabilmektedir. Genellikle tümör dokusunda proliferasyonun artmasına bağlı olarak apoptoziste de artış izlenir [7].

Hücre yüzeyinde bulunan APO-1 (fas res) pozitifliğinin kaybı, tümör gelişimi sırasında ortaya konmuş bir bulgudur. Neoplazma gelişiminde etkili olan önemli diğer bir değişiklik de bazı tümör genlerinin aktive olmasıdır [8].

Apoptozisi uyarıcı bir gen olan p53'te mutasyon veya kayıp, akciğer karsinomunda %80 oranında görülmektedir [8]. Bunun yanında LOH (loss of heterozygosity) ve daha sonra belirlenen MTS 1/CDK41 (Multipl tümör supresör geni 1/siklin bağımlı kinaz 4 inhibitörü), PCNA (proliferating cell nuclear antigen), K ras'ta da mutasyon saptanmıştır. İlk kez B hücreli lenfomada t (14;18) translokasyonunda kırık bölgesinde belirlenen *bcl-2* geni, küçük hücreli dışı akciğer karsinomunda (KHDAK) olguların sadece %8-30'unda görülür. Buna karşılık, küçük hücreli akciğer karsinomunda (KHAK) %90 oranında görülmektedir [7,9].

Tablo 2: Apoptozis ve genler

Apoptozisi baskılayan genler	Apoptozisi indükleyen genler
<ul style="list-style-type: none"> • Bcl-2 grubundan • BHRL -1, bcl-xl, bcl-w, bfl-1, brag-1, mcl-1, A1 • c-abl geni • ras onkogeni • çözünebilir fas • p35 • A20 	<ul style="list-style-type: none"> • Bcl-2 grubundan • Bad, Bax Bak, Bcl-xS, bad, bik, Hrk 1 • c-myc • p53, p21 • fas (CD95/APO1) • FADD/MORT, RIP, FAST • İnterlökin dönüştürücü enzim benzeri proteinler (ICE) • LOH (MTS1/CDK41)

Histolojik olarak, tümör dokusunda apoptotik indeksle apoptotik hücre sayısının yaşayabilir hücelere oranı bulunmaktadır ve bu indeks, apoptozisin şiddetini ya da oranını belirtmektedir. Bu, tümörün tipini ve evresini belirlemede, tedaviye vereceği yanıtı önceden tahmin etmede ve prognozu saptamada yardımcı olabilmektedir. KHDAK'da tümörün evresi ve beklenen yaşam süresiyle apoptozis arasında ilişki olup olmadığı araştırılmış, 75 ve 236 olguluk iki seride apoptotik indekste artış yaşam süresini kısaltırken, 427 olguluk bir çalışmada tek başına prognozu belirlemediği saptanmıştır [10, 11,12].

KHAK'da apoptotik indeks ve bcl-2 gen ekspresyonu KHDAK'ya göre fazla bildirilmiştir [7]. Bu olguların yaşam süresinin kısa olduğu ve kemoterapiye kötü yanıt verdiği görülmüştür [13].

Otoimmün hastalıklarda ve astımda apoptozis

T ve B lenfositleri timusta, kemik iliğinde ve periferik kanda kendi antijenlerine dirençli, yabancı antijenlere (Ag) duyarlı olacak şekilde seçilirler. Bu olayda etkili olan mekanizma, immün hücreler üzerinde Fas reseptörü ve Fas liganının (FasL) etkileşimidir. Fas proteini taşımayan lpr farelerde ve FasL taşımayan gld farelerde lenfadenopati, splenomegali ve multipl otoimmün hastalıklar gelişmekte ve T lenfositlerin negatif seleksiyonu olmamaktadır.

Astım patogeneğinde Fas protein ve FasL anormallikleri suçlanmaktadır. Üst ve alt hava yolları epitelinde bulunan FasL, dokularda inflamasyonu düzenlemekle görevlidir. Gld farelerde ovalbumin ile uyarılma peribronşiyal alanda, submukozal bölgede inflamatuvar hücre birikimine neden olmuştur [14,15]. Yeni tanı konmuş ve daha önce hiç tedavi görmemiş astımlı hastalarda BAL ve periferik kanda T len-

fositlerin Fas proteinleri, Fas protein mRNA ve anti-IgM Fas proteinleri ile inkübasyon sonrası DNA fragmentasyonları ölçülmüş ve CD3+ T lenfositleri ve Fas reseptörünün ekspresyonunda azalma, astımlı hastalarda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur [16].

AIDS ve apoptozis

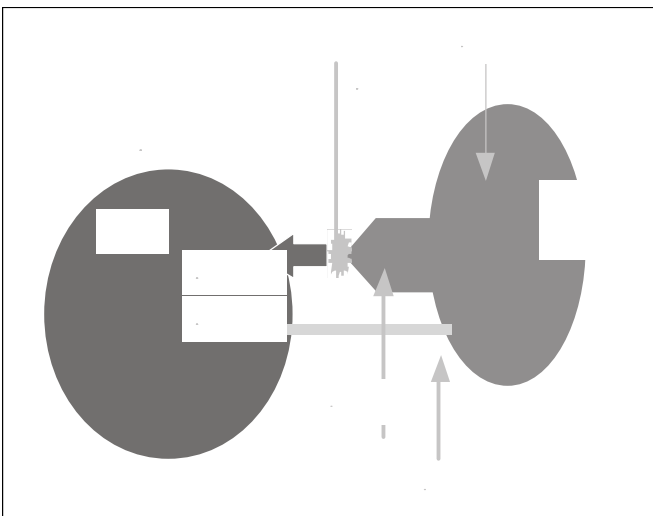
T lenfositine karışık bir sinyal ve antijen sunan bir hücre (APC) tarafından MHC Ag ile T hücre reseptörüne (TCR) ve CD4 + reseptörüne aynı zamanda sunulursa, T lenfosit uyarılır, proliferasyona gider ve lenfokin salgılar (Şekil 2a). CD4 + reseptörü daha erken uyarılır, daha sonra TCR uyarılırsa hücre apoptozise gider. Eğer uygun sinyal yanlış bir bölgeye bağlanırsa, T lenfosit intihar eder.

HIV seropozitif bir kişinin virüs ile enfekte hücrelerinden dolaşıma gp 120 antijenleri (Ag) salınır ve bu antijen, enfekte olmamış T helper (T4) lenfositlerin CD4+ reseptörlerine çapraz bağlanır. Bu hücrelerin TCR reseptörlerine de antijen bağlanırsa hücre apoptozise gider (Şekil 2b). Bu mekanizma, AIDS'de asemptomatik hastalarda virüsle gerçekten enfekte olmamış T helper hücrelerin hızlı bir şekilde kaybını açıklamaktadır [1,6].

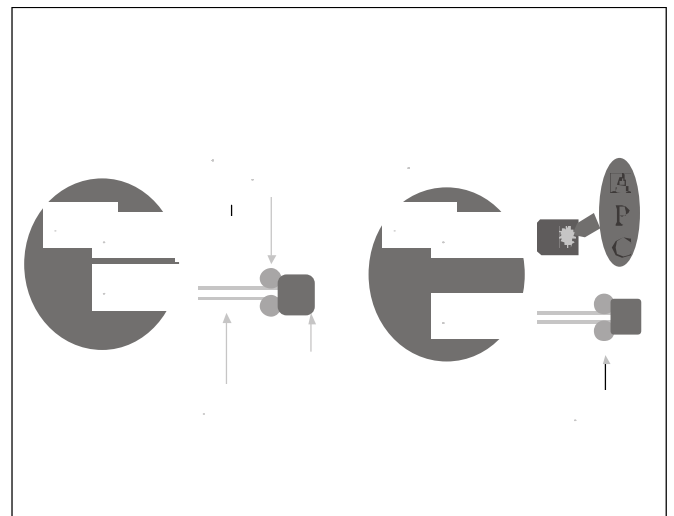
Değişik akciğer patolojilerinde de apoptozis gösterilmiştir. Sarkoidoz, tüberküloz gibi granülomatöz hastalıklarda granülom yapısında inflamatuvar hücreler apoptozisle ortadan kaldırılmaktadır [17]. Akut akciğer zedelenmesinde TNF ve diğer sitokinlerin apoptozisi tetiklediği gösterilmiştir [18].

Apoptozisin yarını

Oldukça yeni bir kavram olan apoptozis yaşamın sürdürülmesinde temel mekanizma olarak görülmektedir ve bu yüz-



Şekil 2a. Normal Th antijen sunumu



Şekil 2b. HIV gp 120 proteini ile apoptozis

den etiyojisini tam olarak açıklayamadığımız pek çok hastalığın aydınlatılmasında ve belki de tedavisinde ileride anahtar rol oynayabilecektir.

Apoptozisin rol oynama potansiyeli olan konular;

1. Malignite patogenezi ve etiyojisinin tanımlanması,
2. Kanser gelişecek kişilerin önceden saptanması,
3. Kanser tedavisi,
 - a) Gen tedavisi, apoptozisi aktive eden kemoterapi, hormon tedavisi
 - b) Tümörün tedaviye vereceği yanıtın saptanması (apoptozis indeksi, apoptoziste etkin genlerin saptanması)
4. Hücre yaşlanması ve dolayısıyla yaşlanmanın önlenmesi,
5. Dejeneratif ve otoimmün hastalıklar ve astım tedavisinde yeni yöntemlerin geliştirilmesi,
6. AIDS'de apoptozisin önlenmesiyle immün baskılama sağlanması.

TEŞEKKÜR

Bu derlemenin hazırlanmasında katkıları olan Prof. Dr. Gülşen Kandiloğlu ve Prof. Dr. Emin Kansu'ya teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Cohen JJ. Apoptosis. To be or not to be. Postgraduate Syllabus (AA-AA-I) 1998;1:1-19.
2. Narula J, Kharbanda S, Khaw BA. Apoptosis and the Heart. Chest 1997;112:1358-62.
3. Gavrieli Y, Sherman Y, Sasson SAB. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. The Journal of Cell Biology 1992;119:493-501.
4. Wyllie AH. What is apoptosis? Histopathology. 1986; 10: 995-8.
5. Searle J, Kerr JFR, Bishop CJ. Necrosis and apoptosis. Pathology Annual 1982;17:229-59.
6. Carson DA, Ribeiro JM. Apoptosis and disease. The Lancet 1993;341: 1251-4.
7. Soini Y, Paakkö P, Lehto VP. Histopathological evaluation of apoptosis in cancer. Am J of Pathology 1998; 153: 1043-9.
8. Kern JA, McLennan G. Genetic and molecular changes of human lung cancer. Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders. Mc Graw-Hill Companies: New York. 1998;2:1695-9.
9. Harris AL. What does bcl-2 mean in solid tumours-friend or foe? Annals of Oncology 1994;5:388-90.
10. Tormanen U, Eerola AK, Rainio P, et al. Enhanced apoptosis predicts shortened survival in non-small cell lung carcinoma. Cancer Res 1995; 55:595-602.
11. Tanaka F, Kawano Y, Li M, et al. Prognostic significance of apoptotic index in completely resected non-small-cell lung cancer. J. Clin Oncol 1999;17:2728-36.
12. Anton RC, Brown RW, Younes M, et al. Absence of prognostic significance of bcl-2 immunopositivity in non-small cell lung cancer: analysis of 427 cases. Human Pathol 1997;28:1079-82.
13. Takayama K, Ogata K, Nakanishi Y, et al. Bcl-2 expression as a predictor of chemosensitivities and survival in small cell lung cancer. Cancer J Sci Am 1996;2:212s.
14. Gochuico BR, Miranda KM, Hessel EM, et al. Airway epithelial Fas ligand expression: potential role in modulating bronchial inflammation. Am.J.Physiol 1998;274:444-9.
15. Woolley KL, Gibson PG, Carty K, et al. Eosinophil apoptosis and the resolution of airway inflammation in asthma. Am J Crit Care Med 1996;154:237-43.
16. Spinozzi F, Fizzotti M, Agea E, et al. Defective expression of Fas messenger RNA and Fas receptor on pulmonary T cells from patients with asthma. Ann Intern Med 1998;128:363-9.
17. Cree IA, Nurbhai S, Milne G, et al. Cell death in granulomata: the role of apoptosis. J Clin Pathol 1987;40:1314-9.
18. Bingisser R, Stey C, Weller M, et al. Apoptosis in human alveolar macrophages is induced by endotoxin and is modulated by cytokines. Am J Cell Mol Biol 1996;15:64-70.