

Apoptoz ve Apoptotik Yolların Gözden Geçirilmesi

Salih CELEPLİ¹, İrem BİGAT², Pınar CELEPLİ³, Peren Hatice KARAGİN⁴

Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, ¹Genel Cerrahi Kliniği, Ankara

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, ²Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Ankara

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, ³Patoloji Bölümü, Ankara

⁴Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, Ankara

GİRİŞ

Apoptozis programlanmış hücre ölümü veya hücre intiharı olarak tanımlanmıştır (1). Apoptozis enerjiye bağımlı ve fizyolojik bir olaydır. Apoptotik programdaki işlev bozukluğu ve uyumsuzluk çok çeşitli patolojilere ve hastalıklara neden olabilir (2).

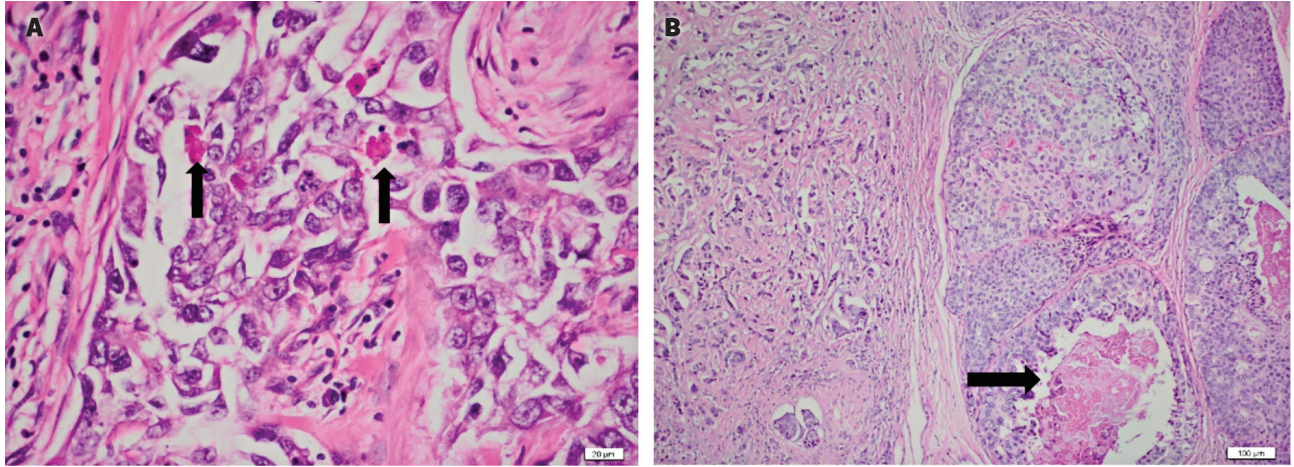
NEKROZ ve APOPTOZİSİN FARKI

Hücre Ölümü Adlandırma Komitesi (Nomenclature Committee on Cell Death - NCDD) tarafından yapılan son güncellemede, hücre ölümü alt tipleri sınıflandırmasına birçok ölüm türü dahil edilmiştir. Bunlar; intrinsik apoptoz, ekstrinsik apoptoz, mitokondriyal geçirgenliğe bağlı nekroz, nekroptozis, ferroptozis, piroptozis, parthanatos, entotik hücre ölümü, netotik hücre ölümü, lizozom bağımlı hücre ölümü, otofaji bağımlı hücre ölümü, immünojenik hücre ölümü, hücre senesens ve mitotik katastrofidir (3).

Nekroz ile apoptozisin ayrımı önemlidir. Nekrozun nedenleri; iskemi, hipoksi, hipertermi, litik viral enfeksiyonlar, toksik maddelerin yüksek konsantrasyonu ve şiddetli oksidatif stresdir.

Apoptozisin nedenleri ise; büyüme hormon eksikliği, hücre yaşlanması, insan bağışıklık eksikliği virüsü (Human Immunodeficiency Virus – HIV), antineoplastik ilaçlar, radyasyon, yüksek glukokortikoid düzeyi, tümör hücreleri, ölüm reseptörü ailesine ait bir membran proteini olan Fas ve tümör nekroz faktör reseptörü-1 (TNFR-1) reseptör aktivasyonu, sitotoksik T lenfositler ve çok şiddetli olmayan oksidatif stresdir (1).

Nekroz ile apoptozis arasında temel morfolojik farklılıklar vardır. Morfolojik olarak mikroskopta apoptoz etrafındaki halo ile kolayca tanımlanır. Nekrozda hücre membranının kaybı, kromatin flokülasyonu, hücre şişmesi, organellerin disintegrasyonu, endoplazmik retikulum dilatasyonu, büyük vakuollerin oluşması ve hücre lizisi görülür. Apoptoziste ise; hücre küçülür ve membranı intakt fakat membranda blebller oluşumu gibi morfolojik değişiklikler görülür. Ayrıca kromatin nükleer membran çevresinde toplanır ve yoğunlaşır. Organellerde disintegrasyon yoktur. Apoptozis sürecinin sonunda morfolojik olarak hücre organelleri membran ile kaplı küçük apoptotik cisimciklere dönüşür (Resim 1).



Resim 1. (A) Apoptoz. İnvaziv meme kansinom hücreleri arasında sitoplazmaları koyu eozinofilik, nükleusları küçük dens görünümde apoptotik hücreler (ok) izlenmektedir (Hematoksilen Eozin, x400). **(B) Nekroz.** İnvaziv meme kansinom komşuluğunda duktal kansinoma in situ içerisinde yoğun eozinofilik nükleus içermeyen nekrotik hücreler (ok) izlenmektedir (Hematoksilen Eozin, x100).

Biyokimyasal olarak nekrozun olması için adenosin trifosfat (ATP) gerekmez iken, apoptoziste ATP gerekir. Nekrozda DNA parçalanması rastgele olur iken, apoptoziste DNA inter-nükleozomal alanlarda 180 kb çiftinin katları olacak şekilde mono ve oligonükleozomlara ayrılır. Nekrozda DNA parçalanması post-litik dönemde olur iken, apoptoziste DNA parçalanması pre-litik dönemde gerçekleşir. Nekrozda gruplar halinde hücre ölümleri olur iken, apoptoziste tek tek hücre ölümü gerçekleşir. Nekrozun aksine apoptoziste enflamasyon görülmez (4).

Apoptozis fizyolojik ve patolojik olarak meydana gelebilir. Fizyolojik apoptoz; insan vücudunun gelişiminde ve embriyogenezde kilit rol oynar. Embriyogenezde gerçekleşen apoptozise örnek olarak fetusun el ve ayak parmakları arasındaki dokunun apoptozisi verilebilir. Yine menstrüel siklusda endometriumun dökülmesi apoptozis ile olur. Apoptoz, yara iyileşmesi sırasında enflamatuvar hücrelerin, özellikle lökositlerin ölümü için de gereklidir. Bu durumda apoptoz oluşmazsa patolojik skar ve fibroz gelişir (5). Apoptoz; radyasyon ve sitotoksik ilaçların alımı sonrası gelişen DNA hasarı, yanlış katlanmış proteinlerin birikimi ve apoptozun mitokondriyal yolunu aktive eden viral enfeksiyonlar sırasında görülebilir (6).

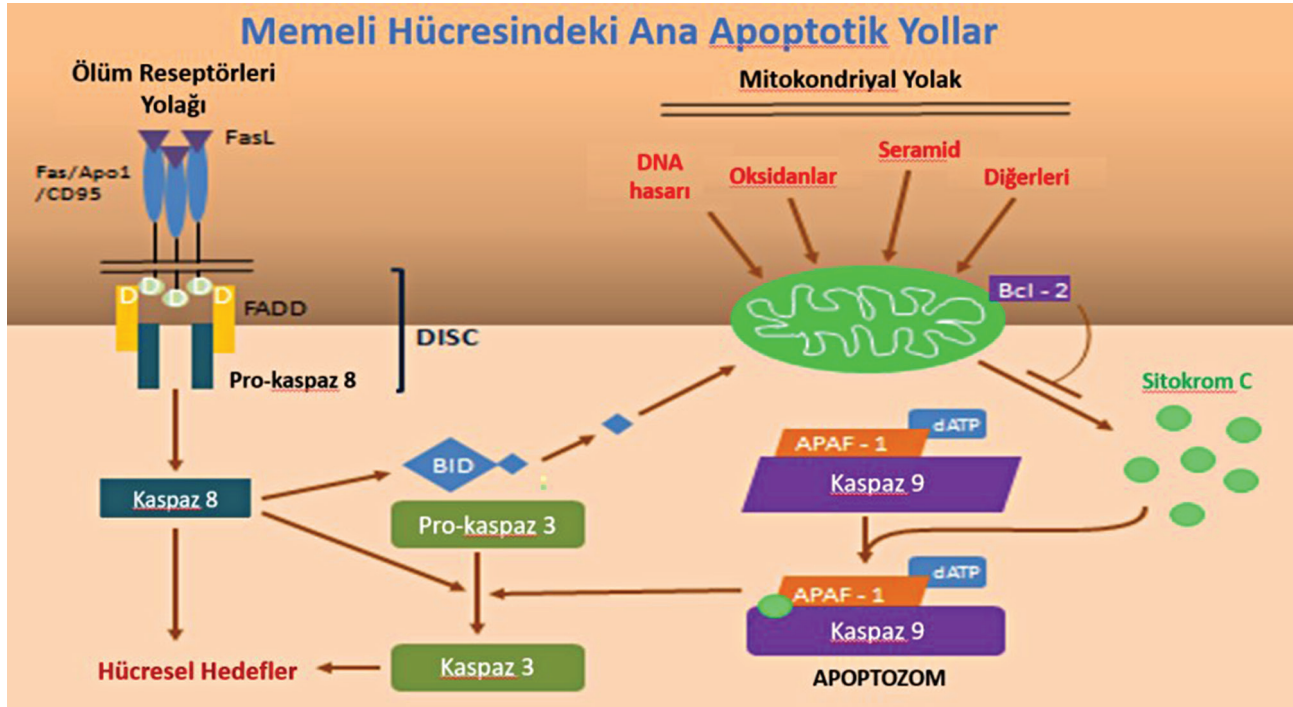
APOPTOZİS YOLAKLARI

Patolojik ve fizyolojik apoptoziste başlıca 5 farklı yolak kullanılır. Bunların en yaygın olarak bilineni metabolik ve hipoksik

stres ile tetiklenen intrinsik (iç) yolak ve ölüm ligandları olarak bilinen Fas-L ya da tümör nekroz faktörü- α gibi dış uyaranlar ile tetiklenen ekstrinsik (dış) yolaklardır (Şekil 1). Bu 2 yolağın dışındaki yolaklar; DNA hasarı üzerine p53 ile aktive olan kaspaz 2 bağımlı yolak, kaspazın doğrudan aktivasyonu ile granzim-B yolağı ve DNA fragmentasyonu ile başlayan granzim-A yolağıdır (7).

İntrinsik apoptoz; genotoksik hasar (iyonlaştırıcı radyasyon), organellere veya sinyal yollarına [endoplazmik retikulum (ER) stresi], mitokondriyal hasara, aşırı mutajenik stimülasyon, onkojene bağlı hücre ölümü ve büyüme faktörü gibi bazı uyarıcıların yokluğu durumlarından kaynaklı uyaranlar ile aktive olur. Bu uyaranlar, intrinsik yolağın ana düzenleyici proteini olan BCL-2 proteinlerinin kompleks düzenlemesine izin verir. Apoptozisin modülasyonunda; iyonlar (kalsiyum), moleküller (seramid), genler (c-myc), proteinler (p53) ve mitokondri başta olmak üzere bazı organeller görev alır. Hücre içi kalsiyum iyonu düzeyindeki artış ve pH'da azalış apoptozisi uyarır (8).

Apoptoziste görev alan proteinler; interlökin dönüştürücü enzim [interleukin converting enzyme (ICE)] benzeri proteinler ise, Fas, Fas-ligand (FasL), BCL-2 ve p53'tür. İntrasellüler asidifikasyon direkt ya da indirekt yolla ICE-benzer proteazları aktive ederek apoptozisi aktive eder. Tüm apoptotik yollar p53-aracılı transkripsiyon akışı ve ICE-benzer proteazların aktivasyonu ile ilişkilidir.



Şekil 1. Memeli hücresinde apoptozis yolları. İntrinsik ve ekstrinsik apoptotik yollar.

BID: BH3 etkileşim alan ölüm agonisti (BH3 interacting-domain death agonist); APAF1: Apoptotik peptidaz aktive edici faktör 1 (Apoptotic protease activating factor 1); DISC: Ölüme neden olan sinyal kompleksi (Death-inducing signaling complex).

Fas ve FasL tümör nekrozis ailesinin transmembran proteinleridir. FasL, Fas'a bağlandığında apoptozis başlatılır (Şekil 1). Fas/FasL immün yanıtın sonlandırılmasında önemli rol oynar. Fas ekspresyonu miktarı apoptozis direncinde önemlidir. Fas aracılı apoptozis için ICE ailesinde yer alan proteazların aktivasyonu gereklidir. BCL-2'nin aşırı üretimi ICE-benzer proteinin aktivasyonunu inhibe eder (9).

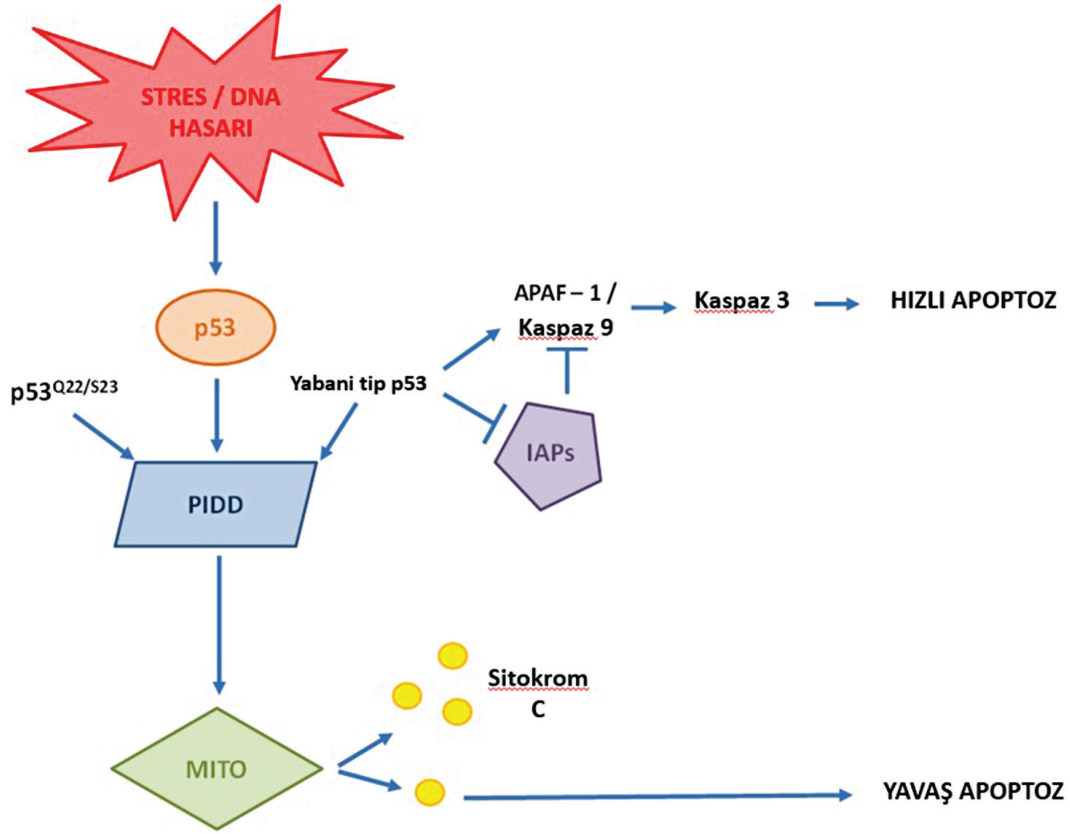
Hücrede p53 proteini DNA'yı bağlar ve p21 proteinini stimüle eder. p21 proteini sikline bağımlı kinaz 2 [cyclin dependent kinase 2 (CDK2)] ile kompleks oluşturduğunda hücre bölünemez (Şekil 2). p53 geninde mutasyon olur ise bu protein DNA'ya uygun şekilde bağlanmaz ve dolayısı ile p21 üretiminde aksaklık olduğu için hücrenin çoğalması için durdurma sinyali oluşmaz. Dolayısı ile hücreler kontrolsüz şekilde çoğalmaya devam eder (1).

İntrinsik apoptozis adaptör protein olan Apaf-1 ve mitokondriden sitozole geçen sitokrom C'nin sitozole serbestlenmesi ile inaktif prokaspaz-9'un aktif kaspaz-9'a dönüşümü ile başlar; ekstrinsik apoptozis sırasıyla FasL ve TNF- α 'nın hücre membranında bulunan Fas ve TNF reseptörüne bağlanması ile inaktif kaspaz-8'in aktif kaspaz-8'e dönüşmesi ile başlar

(Şekil 1). İntrinsik yolda meydana gelen aktif kaspaz-9 ve ekstrinsik yolda aktif hale gelen kaspaz-8'in her ikisi de sırasıyla önce kaspaz-3 sonra kaspaz 6 ve 7'yi aktive eder (5).

İntrinsik Apoptozis

İntrinsik apoptoz, iyonlaştırıcı radyasyonun neden olduğu genotoksik hasar, endoplazmik retikulum stresi, mitokondriyal hasar, aşırı mutajenik stimülasyon, onkogene bağlı hücre ölümü durumları veya büyüme faktörü gibi bazı uyarıcıların yokluğunda aktive olur (8). BCL-2 proteinleri hem proapoptotik hem de antiapoptotik fonksiyonlara sahiptir ve intrinsik apoptotik yolda önemli bir rol oynar. BCL-2 ailesi üyeleri intrinsik mitokondriyal apoptotik programdaki merkezi düzenleyici proteinlerdir ve etkileşimleri hücrenin apoptozise gidip girmeyeceğini belirler (10). BCL-2 protein ailesi apoptozisi indükleyen BCL-2 ilişkili X apoptoz regülatörü [BCL-2 associated X apoptosis regulator (BAX)], BCL-2 ile ilişkili hücre ölüm proteini agonisti [BCL-2 associated agonist of cell death (BAD)], BCL-2 antagonist katili 1 [BCL-2 antagonist killer 1 (BAK)], BH3 etkileşim alan ölüm agonisti [BH3-interacting domain death agonist (BID)], BCL-Xs ve apoptozisi inhibe eden BCL-2, E1B-19K, CED-9 ve BCL-Xl'den oluşan geniş



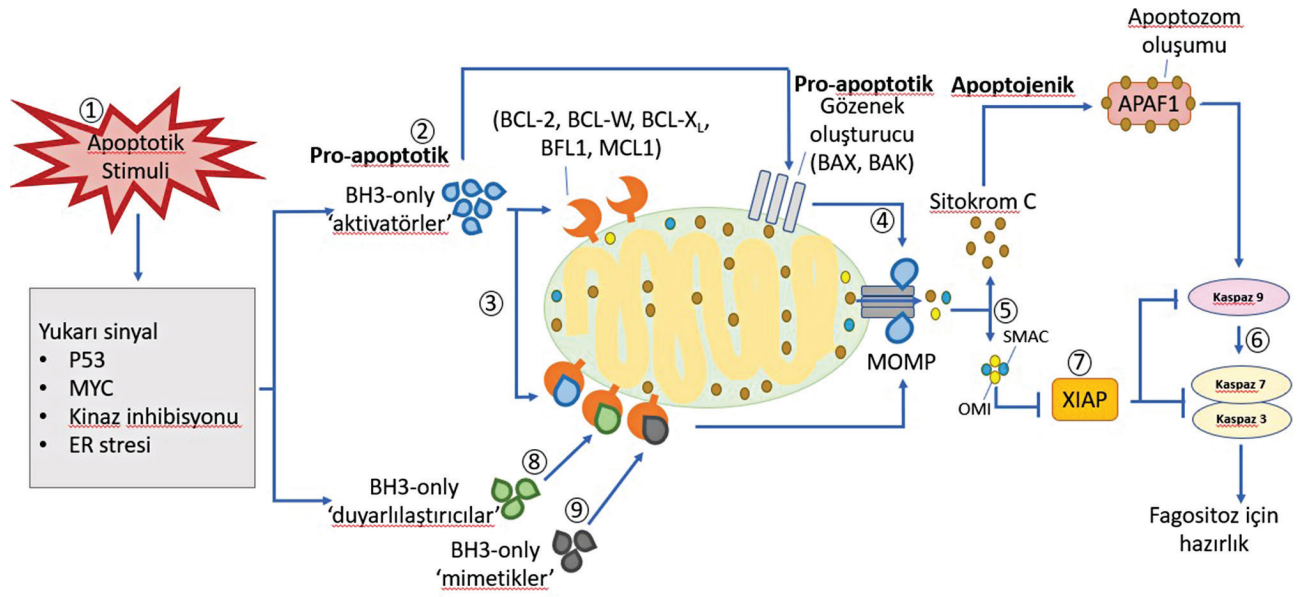
Şekil 2. Stres ve DNA hasarı, p53 protein tarafından başlatılan apoptozis.

PIDD: Ölüm alanı olan p53 kaynaklı protein (p53-induced protein with a death domain).

bir apoptozis düzenleyici protein ailesidir. Bu ailenin üyeleri kendi aralarında homo- ve heterodimerler oluşturur. Hücrenin yaşamaya devam etmesi veya ölmesi bu aile üyeleri arasındaki dengeye bağlıdır. Hücre çekirdeğinde kromozomal translokasyonlar ve gen amplifikasyonları gibi genomik değişiklikler BCL-2 protein ailesi üyelerinin düzeyini arttırabilir (11). Heterodimer olan BCL-2/BAX oranı hematolojik malignitelerde prognostik faktör olarak kullanılmaktadır. Bugüne kadar 25 BCL-2 üyesi belirlenmiştir. Her bir BCL-2 proteinini homoloji alanları (BH1, BH2, BH3 ve BH4) ve alfa sarmalını içerir (12). BH3 etkileşimleri, apoptotik fonksiyonu kontrol eden homo- ve heterodimerlerin oluşturulmasına izin veren bir BH3-hidroforik oluk mekanizması aracılığıyla BCL-2 etkileşimini düzenlemekten sorumludur. Bağlanma oluklarının ve BH3 alanlarının amino asit dizilerindeki küçük değişiklikler bu etkileşimlerin özgüllüğünü kontrol eder. Apoptozisten temel sorumlu BH alanı BH3'tür (13).

BCL-2 ailesi içerdiği BH alanlarına göre temelde 3 protein grubuna ayrılır. Birinci protein grubu; anti-apoptotik akti-

viteye sahip olan BCL-2 proteinleridir. Tüm BH alanlarını (BH1, BH2, BH3 ve BH4) içerir. BCL-XL, MCL1, BCL-W ve A1 proteinleri bu grupta yer alır. Bu grup proteinler mitokondri membranındaki BAX ve BAD proapoptotik proteinleri bloke ederek apoptozisi önler. İkinci protein grubu; pro-apoptotik aktiviteye sahip BCL-2 proteinleridir. Üç BH alanı (BH1, BH2 ve BH3) içerir. BAX, BAK ve BOK gibi proteinler bu grupta yer alır. Bu protein grubu dış mitokondriyal zarındaki geçirgenliğin artmasını sağlar. Bunun sonucunda da apoptotik faktörler sitozole salınır. Üçüncü protein grubu; proapoptotik aktiviteye sahip olan BCL-2 proteinleridir. Bu grup proteinler 2. gruptaki proapoptotik gruptaki proteinlerden farklı olarak sadece BH3 alanı içerirler. Doğrudan mitokondriyal BAX ve/veya BAK ile etkileşime girerek yapısal değişikliklere neden olurlar. Bu proteinlerin varlığı mitokondriyal dış zar geçirgenliği [mitochondrial outer membrane permeabilization (MOMP)] için gereklidir. Bu proteinlerin bazı örnekleri BID, BIM, PUMA ve NOXA'dır (Şekil 3) (14).



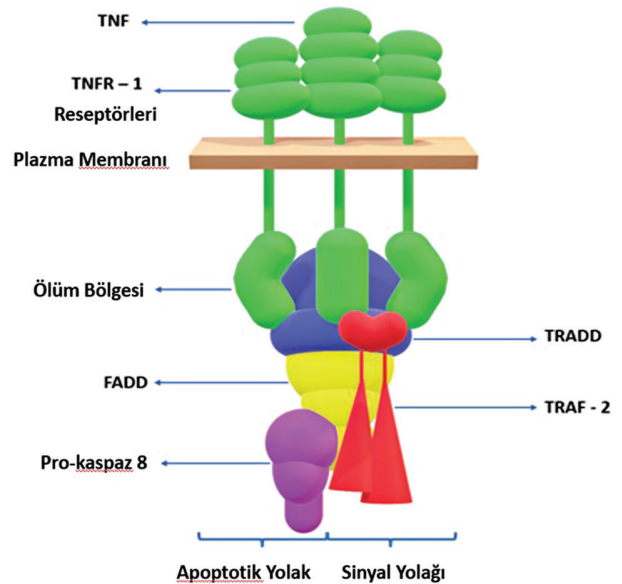
Şekil 3. İntrinsik apoptotik yolak. BCL-2 ailesi proteinleri etki mekanizması.

Dış mitokondriyal zarıda gözenekler oluşturabilen BCL-2 proteinleri, proapoptotik efektör proteinler olan BAX ve BAK'tır. Hücre mitokondri dış membranı yüzeyinde bulunan BAX ve BAK proteinleri ekspres olur ve proteinler Apaf-1 molekülüne bağlanır. Hücrede internal hasar olduğunda Apaf-1 serbestleşir ve MOMP artar. İntrinsik apoptotik yolun ana adımı MOMP'ın artmasıdır. MOMP'ın artması ile birlikte mitokondriyal zarıda intermembranöz alanda bulunan sitokrom C sitozole salınır. Serbest kalan sitokrom C ve Apaf-1, kaspaz-9 molekülüne bağlanır. Sitokrom C, Apaf-1, kaspaz-9 ve ATP'den oluşan komplekse apoptozom denilir. Apoptozom'un oluşması ile birlikte kaspaz kaskadı başlatılmış olur (Şekil 3). MOMP'un artışı BCL-2 ailesinin proapoptotik ve anti-apoptotik proteinleri tarafından düzenlenir. Fizyolojik olarak, dış mitokondriyal membran (OMM) 5 kDa büyüklüğündeki moleküllere karşı geçirgendir. Ancak MOMP arttıktan sonra 100 kDa'dan daha büyük proteinler de gözeneklerden geçebilmektedir (15,16).

Ekstrinsik Apoptozis

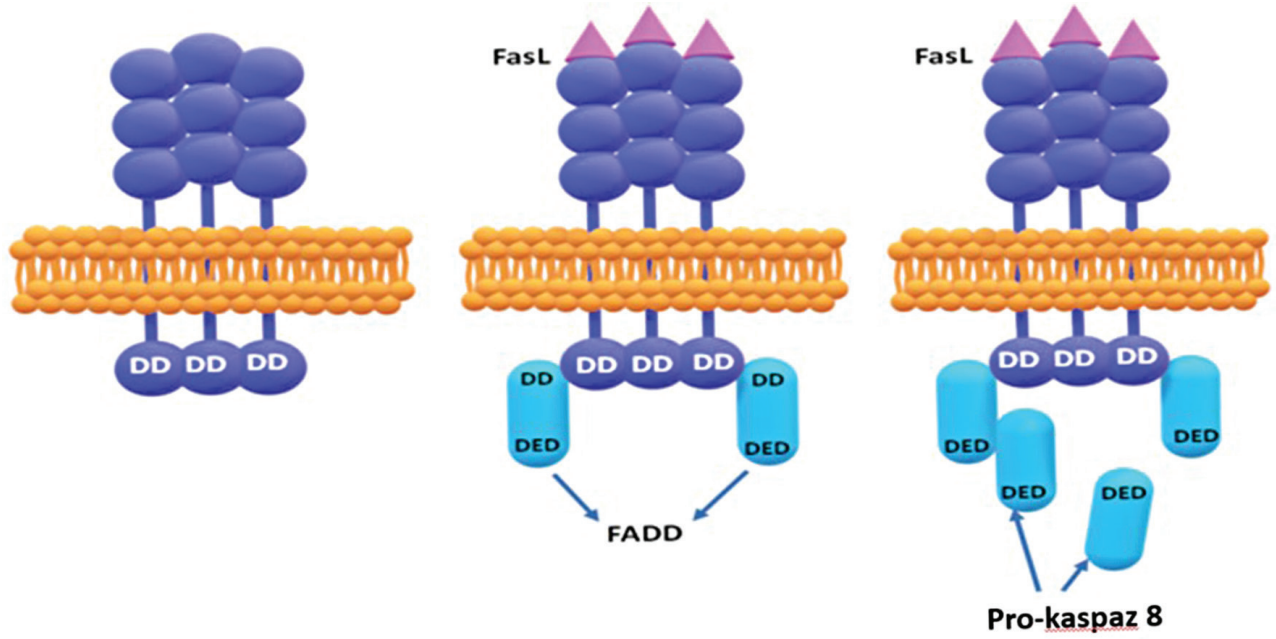
Ekstrinsik apoptotik yol (Ölüm reseptörü yolu-The death receptor pathway); aktive edilmiş T hücreler, doğal öldürücü [Natural killer (NK)] hücreler ve makrofajların hedef hücrenin zarındaki ölüm reseptörlerine bağlanması ile başlatılır. Fas ve tümör nekroz faktör [tumor necrosis factor (TNF)]

reseptörü integral proteinlerdir. Komplementer ölüm aktivatörleri olan FasL ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) bağlanması ile prokaspaz-8 kaspaz-8'e dönüşür. Böylece kaspaz kaskadı aktivasyonu başlatılmış olur (Şekil 4,5) (17).



Şekil 4. Ekstrinsik apoptozis yolağında TNF- α ve TNFR-I reseptör.

FADD: Ölüm etki alanına sahip Fas ile ilişkili protein (Fas-associated protein with death domain).



Şekil 5. Ekstrinsik apoptozis yolağında Fas/FasL.

DD: Ölüm bölgesi (death domain); DED: Ölüm efektör alanı (death effector domain).

Ölüm reseptörleri; CD95 (Fas/APO-1), TNFR1, DR3 (APO-3), DR4 (TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand Receptor 1), DR5 (TRAIL R2) ve DR6'dır. Hücre ölüm sinyalleri hedef hücre zarı üzerindeki TNF ailesinden oluşan ölüm reseptörlerine bağlanarak etkili olur. TNF ailesi molekülü olan TRAIL (TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand)'ın hem hücre membranına bağlı hem de çözünebilir formunun birçok kanser türünde ve otoimmün hastalıklarda ölüm reseptörleri aracılığı ile apoptozisi indüklediği bildirilmiştir. Çözülebilir TRAIL (sTRAIL) apoptozisin göstergesi olarak da kullanılmaktadır (17).

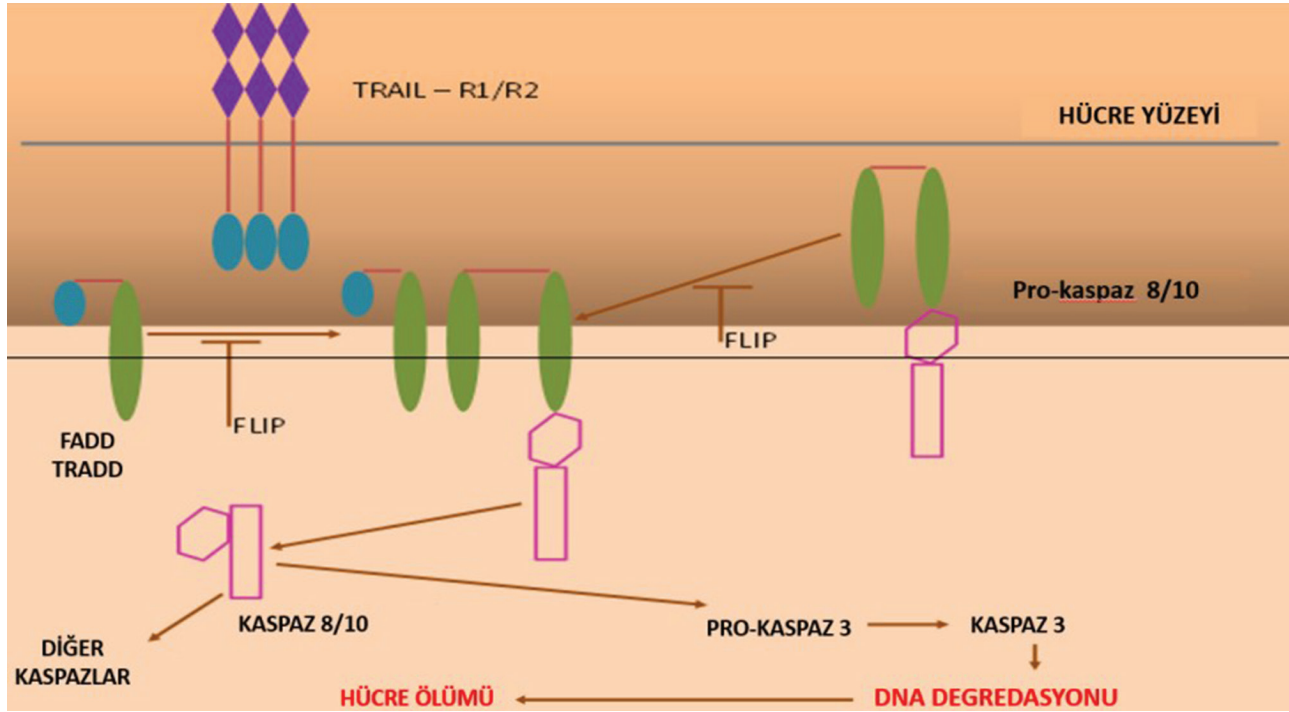
Ölüm ligandları arasında; FasL, TNF ile ilişkili apoptozu indükleyen ligand (TRAIL), APO-3/APO-2 ligandı ve TNF- α sayılabilir. Bu sinyal yolunda en iyi bilinen reseptör-ligand çiftleri FasL/FasR ve TNF- α /TNFR1'dir (Şekil 6). Fas ile ilişkili death domain (FADD) ve TNF reseptörü ile ilişkili death domain (TRADD) molekülleri adaptör proteinler olarak ölüm reseptörlerine alınır. Prokaspaz 8 ve 10 ölümüne neden olan sinyal kompleksi (DISC) oluşturmak için adaptör proteinlere bağlanır. Kaspaz 8 ve 10 bu kompleks yapı tarafından aktive edilir. Aktive olan kaspaz 8 ve 10, yürütücü kaspazlar olan kaspaz 3, 6 ve 7'yi aktive eder. Cellat kaspazlar (kaspaz 3, 6 ve 7) aktive edildiğinde, hücre ölümüne yol açan proteinlerin ve

hücre iskeletinin imhası başlar (9). Ayrıca kaspaz 10'dan farklı olarak kaspaz-8, BID'yi parçalayarak mitokondriden sitokrom C salınımına neden olur ve intrinsik yolu aktive eder (17).

Kaspazlar

Apoptoziste hayati bir rolü olan kaspazlar, sistein-aspartik-proteazlardır. Kaspaz proteaz ailesinin üyeleri, apoptozun başlatılmasında ve uygulanmasında önemli roller oynamaktadır. Bu kaspazlar iki gruba ayrılır; bir sinyale tepki olarak ilk etkinleştirilen başlatıcı kaspazlar (initiator caspase) (kaspaz 2, 8, 9 ve 10) ve apoptozun yıkım aşamasını gerçekleştiren cellat kaspazlar (executioner caspase) (kaspaz 3, 6 ve 7). Birçok geleneksel kanser tedavisi, kanser hücrelerini apoptoza sokabilmek için bu kaspazları dolaylı olarak etkiler. Daha yeni terapötik uygulamalar ise, gen terapisi yaklaşımlarını ve hücrede zaten mevcut olan kaspazların doğal inhibitörlerini baskılayan küçük molekülleri kullanarak kaspazların ayrı ayrı spesifik olarak aktive edilmesini içerir (18).

Cellat kaspazlar olan kaspaz 3, 6 ve 7 aktive edildiğinde; endonükleaz aktivasyonu, DNA fragmentasyonu, nükleer proteinlerin imhası, fagositik hücreler için ligand ekspresyonu ve apoptotik cisimlerin oluşumu gerçekleşir (1). Başlatıcı kaspazlar, kendi kendilerini aktive edebilir ve bunun için



Şekil 6. TRAIL-R aracılıklı hücre ölüm yolağı.

FADD: Ölüm etki alanına sahip Fas ile ilişkili protein (Fas-associated protein with death domain); FLIP: FLICE (FADD-like IL-1 β -converting enzyme)-inhibitör protein.

N-terminal pro-alanları içerir. Efektör kaspazlar ise, aktif başlatıcı kaspazlar 8, 9, 10 tarafından aktive edilir. Kaspaz-2, hem başlatıcı hem de efektör kaspazdır. Spesifik olarak kaspaz-2, efektör kaspaz-13 ile substrat spesifikasyonlarını paylaştığı için efektör kaspaz olarak sınıflandırılabilir. Kaspaz-2'nin rolü açık olmasa da, son zamanlarda yapılan birkaç çalışma genotoksik strese yanıt olarak mitokondriyal yolun yukarı yönde hareket ettiğini bildirmiştir.

Cellat kaspazlarının aktivasyonu; performin/granzim yolu ile de doğrudan başlatılabilir (19). Cellat kaspazlar arasında kaspaz-3 ve kaspaz-7 bulunur. Kaspaz-6 da bu gruptadır, ancak apoptozda daha az belirgin bir role sahiptir. Bunun yerine nörodejeneratif hastalıkta benzersiz bir rol oynar (15,20).

Kaspaz 2, 8, 9 ve 10, başlatıcı kaspazları içerir. Her birinin katalitik alanların dimerizasyonunu kolaylaştırmak için kullanılan bir protein ve protein etkileşim motifini kodlayan uzun bir prodomain vardır. Bu motifler arasında kaspaz-2 ve kaspaz-9'da bulunan kaspaz alım bölgesi [caspase recruitment domain (CARD)] ve kaspaz-8 ve kaspaz-10 prodoinlerinde bulunan ölüm efektör bölgesi [death effector domain (DED)] bulunmaktadır (18). Bu etkileşim alanları, her kaspaz

için aktivasyon platformları görevi görür. Başlatıcı kaspazların büyük çoklu protein komplekslerine alınmasına izin verir. Aktivasyon platformları her kaspaz için spesifiktir. Kaspaz-8 ve kaspaz-10 (17) için ölüme neden olan sinyal kompleksini (DISC), kaspaz-9 için apoptotik peptidaz aktive edici faktör 1 (Apaf1) apoptozomu ve p53'ü içerir kaspaz-2 için indüklenen ölüm alanı proteindir (PIDDosome) (21). Her kompleks genellikle bir reseptör proteininden oluşur. Örneğin, CD95/Fas DISC, CD95/Fas oligomerleri, bağlanma proteini Fas ile ilişkili proteinin ölüm alanı (FADD) ile moleküllerini topladığında oluşur.

Kaspaz-2

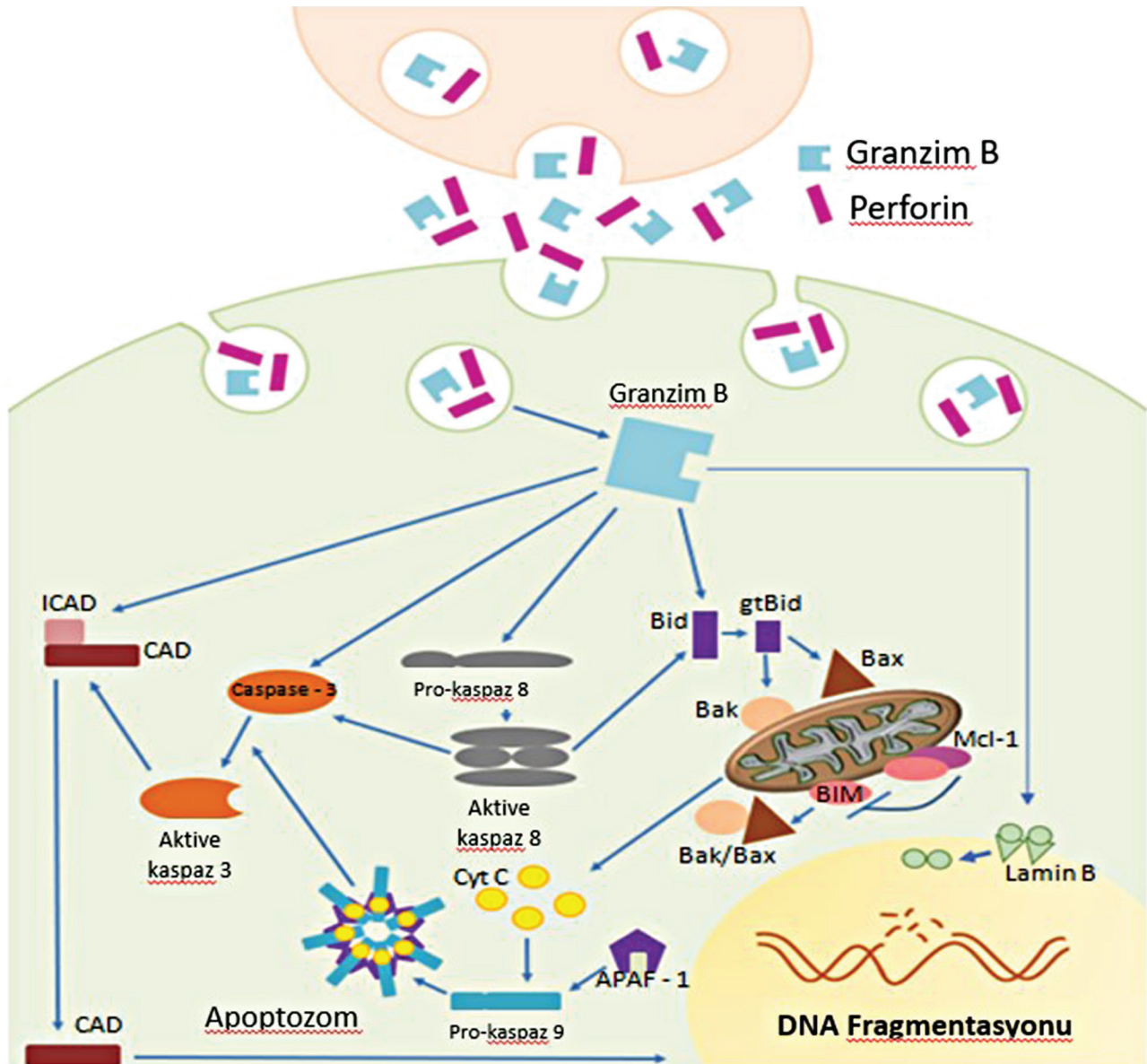
Son zamanlarda yapılan birkaç çalışma genotoksik strese yanıt olarak hücrelerde intrinsik yolağın aktive olduğu bildirilmiştir. Spesifik olarak kaspaz-2, N-terminal pro-alanını içerdiği için bir başlatıcı kaspaz olarak da bilinir. PIDDosome olarak bilinen kaspaz-2 aktive edici kompleks, üç proteinden meydana gelir. Bunlar PIDD, RAIDD ve kaspaz-2'dir. Kaspaz-2'nin PIDDosome'dan bağımsız aktivasyonu da bildirilmiştir. PIDD, C-terminal ucunda yedi tane lösin bakımından zengin tekrarları (LRR'ler), iki tane ZU-5 alanını ve bir tane de ölüm alanını

(DD) içerir. Kaspaz-2'de N terminal ucunda protein etkileşimi için CARD domenini bulunur. PIDDosome düzeneğinde, PIDD ve RAIDD arasındaki bir DD: DD etkileşimi vardır. Ayrıca PIDDosome düzeneğinde RAIDD ve kaspaz-2 arasında bir CARD: CARD etkileşimi vardır. PIDDosome çekirdeği oligomerik kompleks bir yapıda olup, 7 RAIDD DD ve 5 PIDD DD molekülünden oluşur (18). PIDDosome, DNA hasarı olduğunda p53 tarafından indüklenir. PIDDosome platformunun aktivasyonu ile prokaspaz 2 kaspaz-2'ye dönüşür (22). Kaspaz-2 aktivasyonu ile birlikte BID aktivasyonu ve artmış BCL-2-benzeri protein 11 [BCL-2-like protein 11 (BIM)] transkripsiyonu gerçekleşir. Bunun sonucu olarak da BAX/BAK

aktivasyonu gerçekleşir ve apoptozis başlar. Murine double minute-2 (MDM-2)'nin aktivasyonu p53'ün aktivasyonunu inhibe eder. Ayrıca MDM-2 aktivasyonu proapoptotik PUMA/NOXA proteinlerini indükler. Böylece BAX/BAK aktivasyonu mümkün olur (20-23).

Granzim

Sitotoksik T lenfositler ve NK hücreleri, virüs ile enfekte olmuş veya malign dönüşüm sergileyen hücreleri granzim A ve B'yi kullanarak öldürür. Öldürme işlemini hedef hücre zarı ile kendisi arasındaki alana sitotoksik serin proteazlarını içeren granülleri bırakarak yapar (24). İnsan vücudunda 5 tip



Şekil 7. Apoptozis özet.

granzim (A, B, H, K ve M) vardır. Granzim B, proapoptotik proteinlerin en güçlüsüdür. Hücre membranında perforin tarafından gözenekler oluşturulduktan sonra granzim hücreye gözeneklerden girer. Daha sonra granzim BID'yi aktif tBID'ye dönüştürür. tBID sitokrom C'nin mitokondriden sitozole geçişini ve BAK/BAX oligomerizasyonunu kolaylaştırarak apoptozu başlatır (25). Granzim B, kaspaz-3 ve 7'yi doğrudan aktive ederek cellat (executioner) yolağı harekete geçirerek apoptozu başlatır (26). Granzim-B mitokondriye girdikten sonra indirgenmiş adenin dinükleotidi (NADH) ayırarak mitokondriyal solunum zincirini [elektron taşıma zinciri (ETZ)] bozar. Granzim B'nin reaktif oksijen radikallerinin üretilmesini sağlayarak apoptotik hücre ölümüne neden olduğu gösterilmiştir (Şekil 7) (27).

SONUÇ

Apoptoz, belirli morfolojik özelliklere sahip, enerjiye bağlı programlanmış bir hücre ölümüdür. Kaspaz aktivasyonu, hücre ölüm tipleri arasında apoptozda kilit rol oynar. Son yıllarda apoptozu düzenleyen birçok proapoptotik ve antiapoptotik protein tanımlanmış olmasına rağmen, apoptotik yolların moleküler mekanizmaları tam olarak anlaşılmamıştır ve bu konuda araştırmalar devam etmektedir. Bu mekanizmaların anlaşılması sadece apoptozun fizyolojik rollerinin anlaşılmasını sağlamakla kalmaz, aynı zamanda kanserler, otoimmün hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar ve bu tür hastalıklarda çeşitli terapötik ajanların keşfedilmesinde apoptozun patofizyolojik rolünün keşfedilmesini de sağlamaktadır.

KAYNAKLAR

1. D'Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell biology international* 2019;43:582-92.
2. Adamkov M. Logical complexity of Bcl-2 family proteins function in the intrinsic apoptosis. *Srp Arh Celok Lek* 2019;147:98-104.
3. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson S, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ* 2018;25:486-541.
4. Susan LF, Brad TC. Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: Mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infect Immun* 2005;73:1907-16.
5. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 2007;35:495-516.
6. Ansari SS, Sharma AK, Soni H, et al. Induction of ER and mitochondrial stress by the alkylphosphocholine erufosine in oral squamous cell carcinoma cells. *Cell Death Dis* 2018;9:296.
7. Grilo AL, Mantalaris A. Apoptosis: A mammalian cell bioprocessing perspective. *Biotechnology advances* 2019;37:459-75.
8. Singh R, Letai A, Sarosiek K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2019;20:175-93.
9. Pfeffer CM, Singh AT. Apoptosis: a target for anticancer therapy. *Int J Mol Sci* 2018;19:448.
10. Du Toit A. Cell death: Balance through a bivalent regulator. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013;14:546.
11. Cimmino A., Calin G.A., Fabbri M., et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:13944-9.
12. Shamas-Din A, Kale J, Leber B, et al. Mechanisms of action of Bcl-2 family proteins. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2013;5:a008714.
13. Flores-Romero H, Garcia-Saez AJ. The incomplete puzzle of the BCL2 proteins. *Cells* 2019;8:1176.
14. Kale J, Osterlund EJ, Andrews DW. BCL-2 family proteins: changing partners in the dance towards death. *Cell Death Differ* 2018;25:65-80.
15. Peña-Blanco A, García-Sáez AJ. Bax, Bak and beyond-mitochondrial performance in apoptosis. *FEBS J* 2018;285:416-31.
16. Kalkavan H, Green DR. MOMP, cell suicide as a BCL-2 family business. *Cell Death Differ* 2018;25:46-55.
17. Choo Z, Loh AHP, Chen ZX. Destined to die: Apoptosis and pediatric cancers. *Cancers (Basel)* 2019;11:1623.
18. Boice A, Bouchier-Hayes L. Targeting apoptotic caspases in cancer. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 2020;1867:118688.
19. Voskoboinik I, Whisstock JC, Trapani JA. Perforin and granzymes: function, dysfunction and human pathology. *Nat Rev Immunol* 2015;15:388-400.
20. Graham RK, Ehrnhoefer DE, Hayden MR. Caspase-6 and neurodegeneration. *Trends Neurosci* 2011;34:646-56.
21. Tinel A, Tschopp J. The PIDDosome, a protein complex implicated in activation of caspase-2 in response to genotoxic stress. *Science* 2004;304:843-6.
22. Vakifahmetoglu-Norberg H, Zhivotovsky B. The unpredictable caspase-2: what can it do? *Trends Cell Biol* 2010;20:150-9.
23. Miles MA, Kitevska-Ilioski T, Hawkins CJ. Old and novel functions of caspase-2. *Int Rev Cell Mol Biol* 2017;332:155-212.
24. Safta TB, Ziani L, Favre L, et al. Granzyme B-activated p53 interacts with Bcl-2 to promote cytotoxic lymphocyte-mediated apoptosis. *J Immunol* 2015;194: 418-28.
25. Barman J, Kumar R, Saha G, Tiwari K, Dubey VK. Apoptosis: mediator molecules, interplay with other cell death processes and therapeutic potentials. *Curr Pharm Biotechnol* 2018;19:644-63.
26. Kim-Campbell N, Gomez H, Bayir H. Cell death pathways: Apoptosis and regulated necrosis. *Critical Care Nephrology, Elsevier* 2019;113-21. e112.
27. Adrain C, Murphy BM, Martin SJ. Molecular ordering of the caspase activation cascade initiated by the cytotoxic T lymphocyte/natural killer (CTL/NK) protease granzyme B. *J Biol Chem* 2005;280:4663-73.