

Apoptozis

Hasan AKŞİT¹, Ayşegül BİLDİK¹

¹ Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

Makale Geliş ve Kabul Tarihi: 14.09.2007-18.01.2008 Sorumlu Araştırmacı: hasanaksit@adu.edu.tr

Özet: Apoptozis (programlanmış hücre ölümü), hücre intiharı olarak da bilinen fizyolojik bir olaydır. Embriyolojik gelişim ve erişkin dokunun yaşının sürdürülmesinde anahtar rol oynar. Organizmanın ihtiyaç duymadığı, biyolojik görevini tamamlamış veya hasarlı hücreler apoptozis ile genetik olarak kontrol edilerek ortadan kaldırılır. Apoptozisin hızının bozulduğu yani yavaşladığı veya arttığı hallerde çeşitli hastalıklar ortaya çıkar. Apoptozis, klasik hücre ölüm şekli olan nekrozisden birçok özelliği açısından oldukça farklı bir hücre ölüm mekanizmasıdır. Nekrozis, fizyolojik ölüm şekli olmamasına rağmen, apoptozis hem fizyolojik hem de patolojik şartlarda meydana gelebilir. Apoptozis mekanizmasının tetiklenememesi veya mekanizmanın herhangi bir basamağında meydana gelen değişikliklerin tümör gelişimine katkıda bulunduğu bilinmektedir.

Anahtar kelimeler: Apoptozis, Bcl 2, Bax, programlı hücre ölümü, ladder pattern.

Apoptosis

Summary: Apoptosis (programmed cell death) also known as suicide of cells is physiological event. It is playing a key role in embryonic development and maintenance of adult tissues. Cells they are no more required from organism and fulfilled their physiological roles are eliminated by apoptosis which is genetically controlled. In the case of abortion of apoptosis rate some diseases are raised. Apoptosis is in numerous aspects different from necrosis which is known a common cell death. Necrosis is not a physiological loss of cells. However, apoptosis could be encountered both under physiological and pathological circumstances. In deterioration of triggering of apoptosis or alterations in any step of apoptosis it could promote development of tumor tissue.

Key words: Apoptosis, Bcl 2, Bax, programmed cell death, ladder pattern.

GİRİŞ

Her hücre, doğar, çoğalır (proliferasyon), farklılaşır (diferansiasyon) ve ölür (apoptozis). Bütün bu olaylar doğal bir denge halinde sürer gider. Doku homeostazisi yani yeniden yapım ve yıkımın bir düzen içinde oluşu, apoptozis/proliferasyon dengesinin sağlıklı bir şekilde sürdürülmesine bağlıdır (7, 17). Son yıllarda, bu dengenin bozulmasının birçok önemli hastalığın patogenezinde rol aldığı gösterilmiştir (25). Örneğin; artmış proliferasyon ve azalmış apoptozisin karsinogenezde rol oynadığı düşünülmektedir (22).

Apoptozis, hücrenin yaşam çemberi boyunca yapım-yıkım dengesinin sürdürülmesini sağlar. Örneğin kemik iliğinden sürekli olarak hücre üretimi devam ederken, günde yaklaşık 5×10^{11} kan hücresi apoptozis yolu ile yok edilmektedir. Barsak epitel hücrelerinin devamlı yenilenmesi, menstruasyon esnasında uterusun iç yüzündeki hücrelerin öldürülerek uzaklaştırılması apoptozis yoluyla gerçekleşir. Apoptozis, organizmada hasar görmüş veya organizma için tehlikeli olabilecek hücrelerin yok edilmesinde de görev alır. Örneğin virüsle enfekte hücreler bu yolla ortadan kaldırılır. Hasarlı DNA da apoptozis yolu ile ortadan kaldırılır. Hücrenin DNA'sında meydana gelen mutasyonlar kanser gelişimine neden olabilecekleri için bu hasarlı hücrelerin apoptozis yolu ile öldürülmesi büyük önem taşımaktadır (7, 26).

Apoptozisin Tanımı ve Tarihçesi

Apoptozis birçok gen ile ilişkili aktif bir sistem olup, Yunancada apo (= ayrı) ve ptozis (= düşen) kelimelerinin birleştirilmesi ile oluşmuş sonbaharda yaprak dökümünü tanımlayan bir kelimedir (31).

Tümörlerde sık görülen bir olay olup hücre ölümüne yol açan aktif olarak düzenlenmiş bir hücresel süreçtir. Apoptozise direnç göstermek, hücre kaybını azaltarak tümöre bir avantaj sağlar (33).

Yüksek organizmalarda hücre ölümü iki farklı mekanizma ile gerçekleşir, klasik hücre ölümü nekroz olarak adlandırılır. Hücre ölümün diğer şekli olan apoptozis ise çoğunlukla tek tek hücreleri etkiler, birçok fizyolojik ve patolojik koşullarda ortaya çıkar ve genellikle enflamasyon söz konusu değildir (30).

Hücrenin yaşam süresi tipine göre değişmektedir. Örneğin; bağırsak hücreleri 3-5 günlük bir yaşam süresini takiben ölümler, derinin epidermal hücreleri 20-25 günlük bir süre sonunda ölmektedir. Kalp kası hücreleri veya nöronlar ise ömür boyu yaşarlar. Tüm bu ölümler fizyolojik şartlarda meydana geldiği için, fizyolojik hücre ölümü olarak da adlandırılır (39). Apoptozla hücre ölümü; enerji kullanılarak hücresel yarananma ve enflamasyon olmaksızın, ustaca gerçekleştirilir (13). Programlı hücre ölümünün, bütün çok hücreli organizmalarda, gelişmede ve homeostazın sürdürülmesinde vazgeçilmez bir rolü vardır (38).

Apoptozis terimi ilk kez 1972 yılında Kerr ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır. Kerr, fizyolojik olarak ölen hücrelerin çekirdeklerinde yoğunlaşmış kromatin parçalarını gözlemlemiş ve organellerin iyi korunduğunu fark ederek bu olayı büzüşme nekrozu olarak adlandırmıştır (46).

Apoptozisin Görüldüğü Hücre Çeşitleri

Apoptotik hücreler organizmanın bazı dokularında ve hücrelerinde sürekli olarak oluşmaktadır ve bu oluşum ömür boyu devam etmektedir. Böylece ölüm (apoptozis) ve

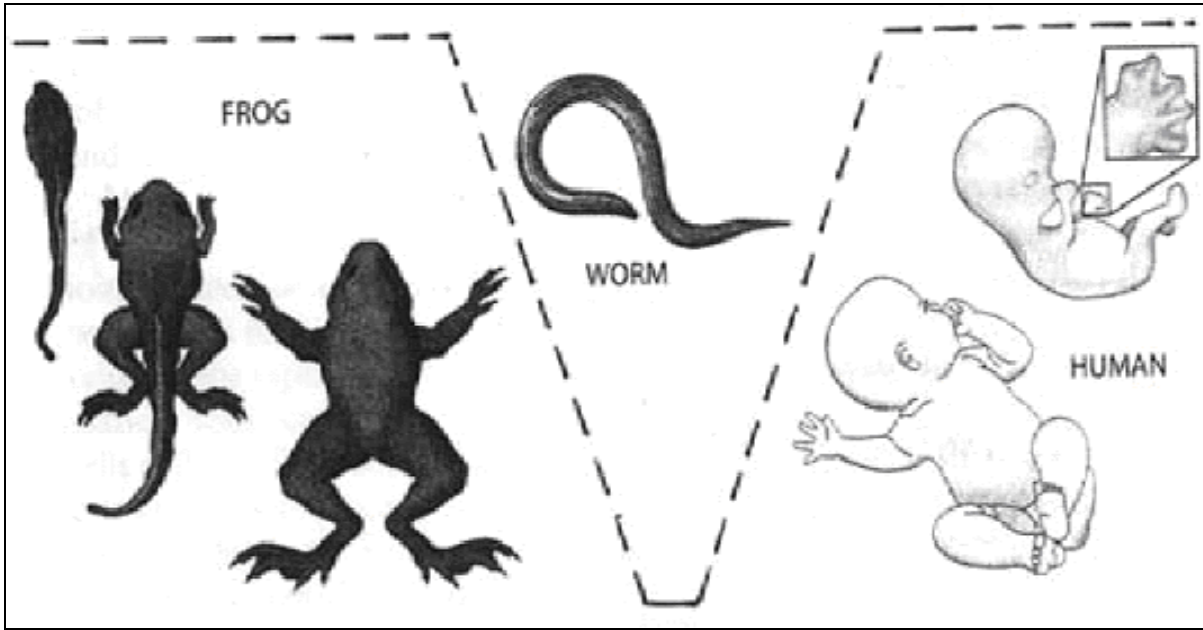
Apoptozis

yeniden yapım (mitozis) bu dokularda doku homeostazisini oluşturmak üzere dinamik bir denge halinde süregelir (45). Apoptotik hücrelerin uzaklaştırılması ve yerine yenilerinin konması günlük 1×10^{11} hücre olarak tahmin edilmektedir ki yetişkin bir bireyin total vücut ağırlığının her 18 – 24 ayda bir değişimine eşittir (39). Bu doku ve hücrelere ince bağırsaklar, deri, timus, uterus, beyin ve göz örnek olarak gösterilebilir (11, 12, 15, 27).

Apoptozis çok hücreli canlıların gelişimi esnasında da görülür. Çok hücreli canlıların normal ve doğru gelişimleri seçilmiş bazı hücrelerin apoptozisle

ölmesine bağlıdır. Örnek olarak 1 mm uzunluğunda transparant bir kurtçuk olan *Caenorhabditis elegans*'ın başlangıçta 1090 olan hücre sayısı tam olarak apoptozisle 131 hücre azalır ve böylece hermafroditik formdan yetişkin forma dönüşür (16). Kurbağaların metamorfozisi esnasında kuyruklarının kaybolarak erişkin forma geçmeleri apoptozisle gerçekleşir. Böylece yetişkin forma geçerler. Kuyruktaki hücreler apoptozisle ölecek kaybolur. İnsan embriyosunun el parmakları arasında bulunan perdelerin buradaki hücrelerin apoptozisle ölmesi sonucu kaybolduğu düşünülmektedir (25, 32) (Şekil 1).

Şekil 1. Kurbağa, *Caenorhabditis elegans* ve insanlarda apoptozis (39).



Apoptozisin Morfolojisi

Apoptozisde ana morfolojik olay, nükleusun yoğunlaşması ve daha sonra parçalara ayrılmasıdır (10). İmmun elektroforez yapıldığında 'ladder pattern' olarak isimlendirilen merdiven şeklinde bir görünüm oluşur (41). Normalde bir hücrede birbirini takip eden 7 kırılma anılırken, apoptoziste yaklaşık 300000 kırılma meydana gelir ve hücre onarımı yapılamaz (29, 47).

Apoptozisin erken evresinde hücreler birleşme bölgelerinden ayrılır, özelleşmiş yüzey organellerini kaybeder ve belirgin şekilde büzülür, bir kaç dakikada hacimlerinin 1/3'ünü kaybederler. Bu görünüm muhtemelen plazma membranında bulunan iyon kanalları ve pompalarında aktivasyonun bozulmasına bağlıdır (43). Apoptotik hücrelerin bulunduğu dokulardan elde edilen kesitler ışık mikroskopunda incelendiğinde, hücreler etrafında açık bir parlama şeklinde görülmektedir (29).

Daha sonra plazma membranında tomurcuklanmalar oluşur ve hücre, sitoplazma ile çevrilmiş kromatin parçalarından oluşan apoptotik cisimciklere parçalanır. Apoptotik hücreler komşu hücreler ile makrofajlar tarafından tanınır ve fagosite edilir (6). 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 fosfatidilserin ile bağlanır ve fagositozu uyarır (29).

Apoptozis, tek bir hücrede, büzülme ve çevre hücrelerle olan temasın kaybolması ile karakterizedir. Hücresel büzülmenin nedeni Na, K, Cl taşıyıcı sisteminin durması nedeniyle hücre içi ve dışı arasındaki sıvı hareketinin olmamasıdır. Apoptotik uyarımı alan hücre, hacminin yarısına düşer, çevre ile olan bağlantılarını keser ve mikrovillusları kaybolur. Elektron mikroskopunda gözlenen değişikliklerde, öncelikle plazma membranının şekli bozulur ve kabarcıklanmalar oluşur ki bu yapı 'zeiozis' olarak tanımlanır. Zardaki tomurcuklanma ve parçalara ayrılma olayında transglutaminaz enzimi etkili olmaktadır (38).

Fosfolipitler, yani iç tabakada bulunan fosfatidilserin ve fosfatidiletanolamin ile dış tabakada bulunan fosfatidilkolin asimetrik olarak dağılmışlardır. Normal hücrelerde bu asimetri ATP'ye bağlı translokaz ile aktif olarak korunmaktadır. Apoptoz sırasında ya ATP translokaz yetmezliği ya da diğer enzim sisteminin aktivasyonu sonucu fosfatidilserin dış yüzey tabakaya yerleşir. Bu durum

apoptotik cisimciğin fagositozu için bir uyarıdır. Apoptotik cisimcikler, sitokin salgılanmasını ve inflamasyon oluşumunu uyarmaksızın, makrofajlar ya da komşu hücreler tarafından fagosite edilirler. Apoptoz 30 – 60 dakika gibi bir sürede tamamlanır. Hücre iskeleti apoptozda önemli bir role sahiptir (35). Elektron mikroskopunda apoptoz esnasında, kromatinin yoğunlaşması, sitoplazmanın büzülmesi, plazma membranının kabarması, mitokondri dış membranında şişme, mitokondrial membran aralığında sitokrom c ve bir oksidoredüktaz ile ilişkili flavoprotein olan Apoptozis İndükleyici Faktör salınımı, olduğu bildirilen morfolojik değişikliklerdir (34).

Apoptozisin Mekanizmaları

Hücrenin kendi otomatik saati olan genlerin aktivasyonu veya çevreden gelen sinyallerle apoptozis

başlamaktadır (7).

Apoptozis önceden hazır olan hücrelerde primer başlatılabilir ya da bir uyarı sonucu sekonder olarak gelişir. Hücre dışı uyarılar arasında; tümör nekroz faktörü (TNF), koloni uyarıcı faktörler (CSF), nöron büyüme faktörü (NGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) (14), IL-2 gibi maddelerin ortamda azalması, glukokortikoidler, radyasyon, ilaçlar, çeşitli antijenler önemli yere sahiptir. Otoimmün hastalık gelişiminde rolü olduğu belirtilen Fas/FasL (3), sFas proteinleri, virüsler de (HIV gp120 proteini, influenza virüsü TNF reseptörü üzerinden; adenovirüs hücre genetik yapısını bozarak) hücreyi apoptozise götürmektedir (7). Organizmada apoptozisi uyarı ve engelleyen çok sayıda gen bulunmaktadır (29) (Tablo 1).

Tablo 1. Apoptozis ve Genler (29).

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, bid, bik, Hrk1 c-myc p53, p21 fas (CD95/APO1) FADD/MORT, RIP, FAST interlökin dönüştürücü enzim benzeri proteinler (İCE) LOH (MTS1/CDK41)

Apoptozisi etkileyen hücre içi uyarılar arasında sitokinler, hücre içi kalsiyum miktarında artış, tümör nekroz faktör, DNA hasarı nedeniyle bir tümör süpressör gen olan p53'ün aktive olması, viral-bakteriyel enfeksiyonlar, glukokortikoidler ve onkojenlerin (cmyc gibi) yer aldığı bilinmektedir. Ayrıca hipertermi, radyasyon, sitotoksik antikanser ilaçları ve hipoksi gibi nekroz oluşturabilen etkenler hafif dozlarda apoptoz meydana getirirler. Apoptozda hücre ölümü çevreye rahatsızlık vermeksizin gelişse de bazen apoptozis dolaylı olarak çevre dokuda nekrozu başlatabilir ya da tam tersi nekroz apoptozis gelişmesine yol açabilir (29).

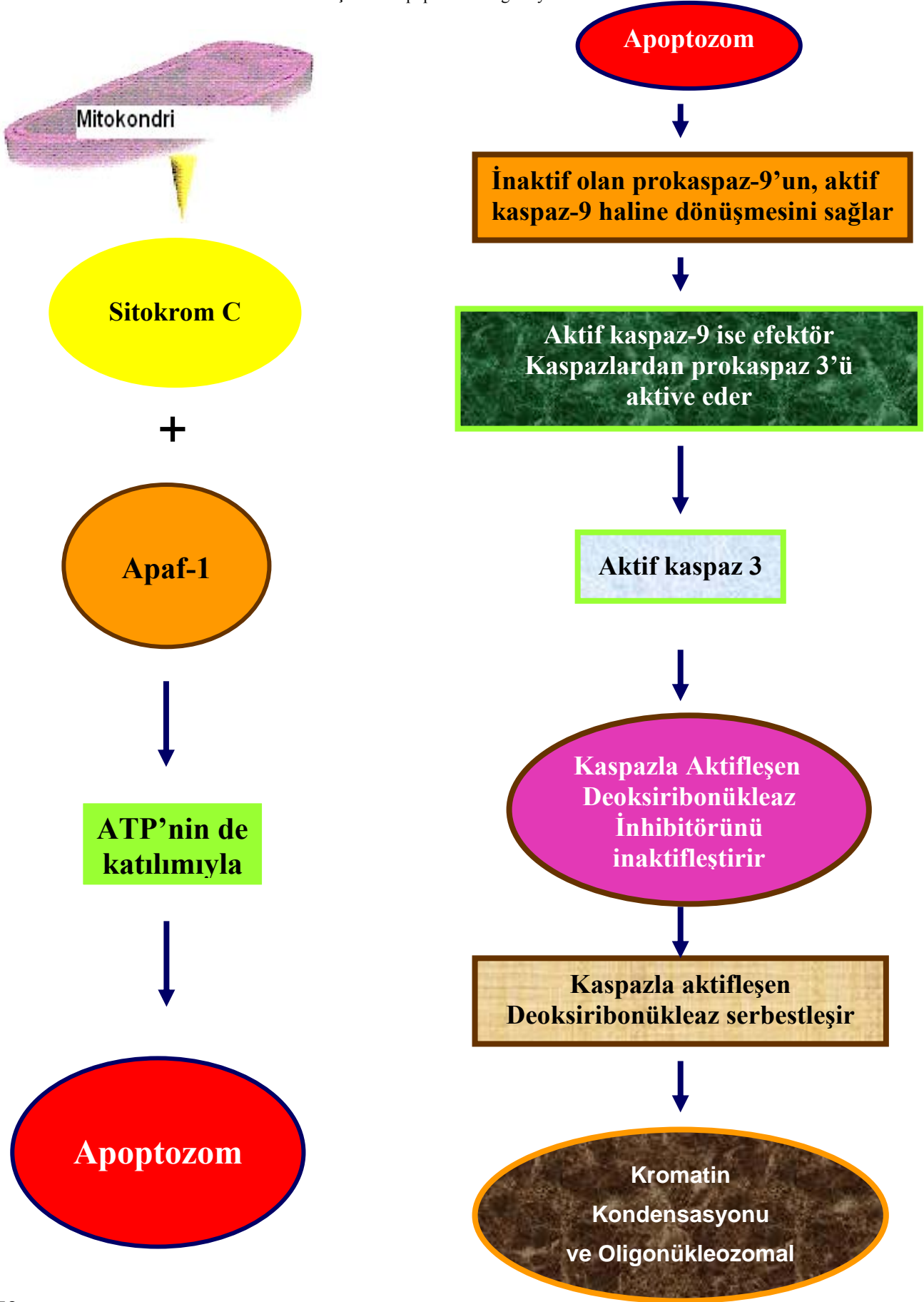
Apoptozis süreci; DNA hasarına genlerin yanıtı, hücre membranı tarafından ölüm sinyallerinin alınması (Fas ligandı), hücreye doğrudan proteolitik enzim girişi (granzim) olmak üzere üç farklı şekilde işleyebilir (34). Apoptoz sürecinde belli başlı üç anahtar bileşen vardır. Bunlar; Bcl-2 ailesi proteinleri, kaspazlar ve Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor-1) proteindir. Bu bileşenlerin biyokimyasal aktivasyonu, apoptozda gözlenen mitokondriyal hasar, çekirdek zarı kırılması, DNA fragmentasyonu, kromatin yoğunlaşması ve apoptotik cisimlerin şekillenmesi gibi morfolojik değişikliklerden sorumludur (36). Günümüzde apoptoz sürecinde rolü olan biyokimyasal ve genetik

komponentlerin aydınlatılmasıyla birlikte apoptozun aktivasyonuna ya da inhibisyonuna yönelik çalışmalar; kanser, AIDS ve otoimmün bozukluklar gibi birçok hastalıkta yeni tedavi olanaklarını gündeme getirmektedir (9).

Apoptozun Regülasyonu

Bcl-2 / Bax gen ailesi ile sağlanır. Bu ailenin 20 üyesi tanımlanmıştır; bunlardan bazıları apoptoz inhibitörüdür (antiapoptotik), bazıları ise apoptozu uyarır ve proapoptotik genler olarak tanımlanır (26). Apoptotik sinyalin alınmasından sonra Bax (proapoptotik) proteinleri, mitokondri zarının iyon geçirgenliğini (permeabilitesini) azaltabilir. Zardaki bu değişiklikler nedeniyle sitokrom c ve AIF (Apoptozis Inducing Factor) gibi mitokondri zarı içinde yer alan faktörler sitoplazmaya geçerler (19). AIF doğrudan yoğunlaşan kromatine ve parçalanan çekirdeğe yönelirken, sitoplazmaki sitokrom c apoptozun en son basamağında görev alır. Sitokrom c bir sitoplazma proteini olan Apaf-1'e bağlanarak prokaspaz-9'u aktive eder ve oluşan bu kompleks 'apoptosom' olarak isimlendirilir. Prokaspaz-9'un aktivasyonu, bir seri kaspaz aktivasyonunu başlatır (26, 38). Şekil 2'de apoptozisin regülasyonu gösterilmiştir.

Şekil 2. Apoptozisin Regülasyonu



Apoptozisin İndüklenmesi

Apoptozis hücre ölüm reseptörleri olarak bilinen Fas (diğer isimleriyle APO-1, CD95) ve tümör nekroz faktör reseptörü-1 (TNFR-1)'in ilgili ligandları ile etkileşime girmesi (uyarılmalari) sonucu indüklenir. Bu hücre yüzey reseptörleri, hücre membranında bulunur ve TNFR ailesinin üyesidirler (8). Fas lenfoid hücrelerde, hepatositlerde, bazı tümör hücrelerinde, akciğerlerde, hatta miyokarda bulunurlar. Öncelikle kendilerine doğal olarak bağlı bulunan ve ölüm bölgeleri adı verilen TRADD (TNFR-1 associated death domain) ve FADD (Fas associated death domain) ile interaksiyona girerler. Bu ölüm bölgeleri ise prokaspaz 8'i aktiveleştirerek kaspazların kaskad tarzında aktivasyonlarını başlatırlar (3).

Apoptozis ve Nekrozis Arasındaki Farklar

- Nekrozis fizyolojik bir ölüm şekli değildir. Apoptozis hem fizyolojik hem de patolojik şartlar altında meydana gelebilir.
- Nekrozisde hücre şişerken apoptotik hücre tam tersine küçülür. Nekroziste kromatin patterni hemen hemen normaldir.
- Apoptotik hücrenin kromatini nükleus membranının çevresinde toplanır ve yoğunlaşır. Apoptozisin en önemli özgül yönü DNA'nın internükleozomal bölgelerden parçalanmasıdır.
- Nekrotik hücrenin plazma membranı bütünlüğünü kaybeder. Apoptotik hücre membranı sağlamdır.
- Nekrotik hücre sonradan lizise uğrar. Apoptik hücre küçük cisimciklere parçalanır.
- Nekroziste inflamasyon uyarılır. Apoptoziste inflamasyon oluşmaz (2, 5, 18, 44).

Apoptozisin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler

Apoptozisi saptamak için çok çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. 1972 yılında apoptozis terimi ilk kez kullanıldığında hücrenin morfolojik görünümüne göre karar verilmişti. Oysa günümüzde morfolojik değerlendirmenin yanı sıra apoptozise özgü olduğu bilinen bazı aktivasyonların (örneğin, aktif kaspaz-3 tayini) moleküler düzeyde belirlenmesiyle de saptanabilmektedir. İlk kez morfolojik kriterlere göre belirlenen apoptozis, 80'li yılların sonuna doğru DNA kırıklarının oluştuğunun ortaya çıkarılmasıyla birlikte bu kırıkların saptanmasına yönelik yöntemlerle belirlenmeye başlanmıştır. 90'lı yılların ortalarında ise apoptotik hücrelerde kaspazların aktifleştigi bulunmuştur. Böylece kaspaz aktivasyonlarının belirlenmesine yönelik metotlarla saptanabilen

apoptozis 90'ların sonuna doğru fosfotidilserin translokasyonunu belirleyen yöntemlerle de saptanmaya başlanmıştır. 2000'li yılların başlarında apoptotik epitelyal hücrelerde olmak üzere kaspaz aktivitesiyle kırılan bir protein olan keratin 18'in kırıldıktan sonraki özgün formunu saptayan antikörlerin kullanılarak daha spesifik olarak saptanması takip etmiştir (20, 23, 24, 37, 40, 42).

Apoptozisin belirlenmesinde kullanılan yöntemler;

- Morfolojik görüntüleme yöntemleri
- İmmunohistokimyasal yöntemler
- Biyokimyasal yöntemler
- İmmunolojik yöntemler
- Moleküler biyoloji yöntemleri

Hastalıklarda Apoptozis

Apoptoz birçok patolojik ve fizyolojik olayda etkin rol almaktadır. Fizyolojik olayların başında hücre yapım-yıkımı gelir. Deri, barsak epiteli, kan hücreleri gibi hücre yapım-yıkımının hızlı olduğu dokularda yaşanan hücreler apoptozla ortadan kaldırılarak yeni hücrelere yer açılır. Patolojik olarak sayılabilecek olaylarda ise; tümörlerde hem regresyon hem de büyüme aşamasında rol oynar. Yine dokularda hormona bağlı patolojik atrofi, bazı kalp hastalıkları, otoimmün hastalıklar, nörodejenaratif bozukluklara bağlı hastalıklarda ve kanserde apoptozis mekanizması devreye girer. Apoptozisin artması veya azalması ile ilgili hastalıklar tablo 2'de verilmiştir (4, 9, 14, 25, 28).

Tedavide Apoptoz

Bugün birçok hastalığın hücre ölümü ya da yaşamı ile ilgili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle apoptotik sürece müdahale ederek yeniden düzenlenmesi, önemli tedavi yöntemlerini gündeme getirmektedir. Potansiyel tedavi yöntemleri üç kategoride toplanmaktadır ki bunlar; gen tedavisi (p53'ün yedeklenmesi vb.), apoptoz moleküllerinin düzenleyicilerini hedefleyen moleküllerin enjeksiyonu (Growth faktörler ve çözülebilir FasL vb.), apoptozla ilişkin genlerin ifadesini (ekspresyonunu) düzenleyen farmakolojik küçük moleküller (Bcl-2 vb.). Bugüne kadar non-steroidal antiinflamatuvarlar gibi apoptoz düzeyini değiştirdiği bilinen birçok ilaç vardır. Aslında bütün sitotoksik ilaçlar ve radyoterapi programları tümör hücrelerinde apoptozu başlatır ve apoptozla olan direnç tedavideki başarısızlığı getirir. Üstelik bu tedaviler, normal hücrelerde de apoptozu başlatır ve kemik iliği üzerinde olumsuz yan etkileri vardır.

Tablo 2. Hastalıklarda Apoptozisin Rolü (38).

Apoptozisin Artmasıyla İlgili Hastalıklar	Apoptozisin Azalmasıyla İlgili Hastalıklar
Nörodejeneratif Bozukluklar	Kanser
Alzheimer hastalığı Amyotrofik lateral skleroz Creutzfeld-Jakop hastalığı Huntington hastalığı Parkinson hastalığı Retinitis pigmentosa Spinal muskular atrofi	Blastom Karsinom Lösemi Lenfoma Malign gliom Sarkom Seminom
Hematolojik Bozukluklar	Premalign Hastalıklar
Aplastik anemi Fanconi anemisi Hodgkin hastalığı Myelodisplastik sendromlar Polycythemia vera	Ataxia telangiectasia Paroksimal nokturnal hemoglobinüri Myeloblastik sendromlar Xeroderma pigmentosum
Otoimmün Bozukluklar	Otoimmün Bozukluklar
Fulminant hepatit Graft-versus-host hastalığı Hashimoto tiroitisi İnsüline bağımlı diyabet Multipli skleroz Romatoid artrit Skleroderma Şjögren sendromu	Otoimmün lemfoproliferatif sendrom (tip I ve II) Sistemik lupus erythematosus
	Ateroskleroz
	Metabolik Bozukluklar
	Nimann-Pick hastalığı Osteoporoz Wilso hastalığı
İskemik Yaralanma	Viral Enfeksiyonlar
İskemi ve reperfüzyon Böbrek enfarktüsü Miyokardial enfarktüs İnme	Adenovirüsler Baculoviruses Epstein-Barr virüs Herpesvirüsleri Poxvirüsler
Toksinlere Bağlı Hastalıklar	Prematur ve Fizyolojik Yaşlanmada Apoptozis
Alkole bağlı hepatit Pulmonar fibrozis Sepsis	Down sendromu Erken yaşlanma (progeria) Xeroderma pigmentosum
Bakteriyel ve Viral Enfeksiyon	
AIDS Ebola virüsü Chlamydia trachomatis Helicobacter pylori Neisseria meningitis Salmonella typhimurium Shigella flexneri	
Diğerleri	
Travmatik spinal kord yaralanması Tümör karşı atağı (immün ayrıcalık)	

Bununla beraber son zamanlarda geliştirilen yeni birçok tedavi denemeleri ümit vericidir (1, 38).

Ayrıca virüsler ve bazı intraselüler bakteriler canlılıklarının devamı için farklı stratejiler geliştirmişlerdir. Örneğin; Bcl-2'ye benzer bir protein şifrelemek (Adenovirus); Bcl-2'nin ekspresyonunu

uyarmak (Epstein-Barr Virus) Prokaspaz 1 ve 8'i inaktive eden proteaz inhibitörü şifrelemek (cowpox); mitokondriyal sitokrom c'nin sitozol içine salınımına müdahale etmek gibi. Virüs ve bakterilerin bu davranışlarının tedavide kullanılabileceği düşünülmüştür. Örneğin; CrmA ineklerde görülen çiçek virüsünden elde edilen bir proteindir ve

başlatıcı kaspazları inhibe eder. Asıl etkisi virüsün ilerleyebilmesi için inflamasyonun ve hücre ölümünün engellenmesidir. p35 ise bir baculovirüs proteinidir ve kaspaz aktivasyonu ile etkileşim içinde olan genel bir apoptoz inhibitörüdür. Özgül olarak, kaspaz 1, 2, 3 ve 4'ü inhibe eder. Bunların dışında apoptoz inhibisyonu

yapan başka proteinler olduğu gibi sentetik özgül kaspaz inhibitörleri de üretilmektedir (21).

Tedavide kaspaz ailesi üyeleri ve Bcl-2/Bax ailesindeki genlerin ekspresyonları da önemli yer tutmaktadır (30). Aşağıdaki tabloda apoptoza müdahale edilerek geliştirilen tedavi örnekleri gösterilmiştir (38) (Tablo 3).

Tablo 3. Apoptoza müdahale edilerek geliştirilen tedavi örnekleri (38).

Mevcut tedaviler	
Aspirin, siklooksijenaz-2 inhibitörleri	Non-steroidan anti-inflamatuarların kolorektal adenoma ve kansere karşı koruyucu olduğu kanıtlanmıştır. Bu etki siklooksijenaz-2 enziminin inhibisyonu doğrultusunda apoptozun indüklenmesinden dolayı olabilir
Antikanser ilaçları, radyoterapi	Ashında bütün sitotoksik ilaçlar ve radyoterapi normal hücrelerde ve tümörlerde apoptozu indükler. P53'e bağımlı ve bağımsız mekanizmalar tanımlanmıştır
Yeni tedaviler	
Bcl-2 antisense	İlk klinik çalışmalar, non-Hodjkin's lenfoma gibi bazı hastalıkların olumlu sonuç verdiğini göstermiştir
Rekombinant TRAIL	Akciğer, göğüs, kolon ve böbrek kanserlerinin TRAIL'e karşı duyarlı olduğu ve apoptozu uyardığı prelinik çalışmalarla kanıtlanmış ve desteklenmiştir
Kaspaz inhibitörleri	Travmatik beyin yaralanması, amiyotrofik lateral skleroz ve Parkinson hastalığında pozitif prelinik hayvan modelleri
Antioksidanlar	Pyrrolidinedithiocarbamate ve 6-hidroksi 2, 5, 7, 8-tetramethylchromancarboxylic acid (E vitamini analogu) floroaçil artışıyla kolorektal kanser hücrelerinde apoptozu indükler
İnterlökin-1 reseptör antagonistleri	Sıçan modellerinde iskemik beyin hasarında azalma

Sonuç olarak; doku homeostazi, hücre çoğalması, farklılaşması ve ölümü arasındaki uyumlu ilişkiye bağlıdır. Apoptozun önemi, çeşitli biyolojik olaylarda gereksiz, hasarlı ya da zararlı hücrelerin inflamatuvar yanıt olmaksızın yok edilmesini sağlamasından ve organizmanın iç dengesinin devamlılığına katkıda

bulunmasından ileri gelmektedir. Canlı doku ortamında hücrelerin tek tek iz bırakmaksızın silindiği fizyolojik bir ölüm şekli olan apoptoz ilgi çekici olduğu kadar insanlardaki önemli patojenlerin tedavisi açısından da umut verici bir mekanizmadır.

KAYNAKLAR

1. Almasan A, Ashkenazi A (2003): Apo2L/TRAIL; Apoptosis signaling, biology and potential for cancer therapy. *Cytokine & Growth Factor*, 14: 337-348.

2. Barisic K, Petrik J, Rumora L (2003): Biochemistry of apoptotic cell death. *Acta Pharm.*, 53: 151-164.

3. Bender L M, Morgan M J, Thomas L R, Liu Z G, Thorburn A (2005): The adaptor protein TRADD

activates distinct mechanisms of apoptosis from the nucleus and the cytoplasm. *Cell Death and Differentiation*, 12: 473-481.

4. Billig H, Furuta I, Rivier C, Tapanainen J, Parvinen M, Hsueh A J W (1995): Apoptosis in testis germ cells; developmental changes in gonadotropin dependence and localization to selective tubule stages. *Endocrinology*, 136 (1): 5-12.

- 5.Brouckaert G, Kalai M, Krysko D V, Saelens X, Vercammen D, Ndlovu M, Haegeman G, D'herde K, Vandenebeele P (2004):** Phagocytosis of necrotic cells by macrophages is phosphatidylserine dependent and does not induce inflammatory cytokine production. *Molecular Biology of the Cell*, 15: 1089-1100.
- 6.Dayan Y B, Kaveri S V, Kazatchkine M D, Shoenfeld Y (2000):** Is cancer an autoimmune process dependent on anti-apoptotic autoantibodies?. *Medical Hypotheses*, 55 (2): 103-108.
- 7.Erdoğan B B (2003):** Apoptozis mekanizmaları: tümör gelişiminde fas-fasl bağımlı apoptozis. *Akciğer Arşivi*, 4: 165-174.
- 8.Essmann F (2000):** Mechanisms of apoptosis in cancer; regulatory role of caspases. Doctoral Thesis, Tecnic University of Berlin, Berlin.
- 9.Estaquier J, Idziorek T, Bels F D, Sinoussi F B, Hurtrel B, Aubertin A M (1994):** Programmed cell death and AIDS; significance of T-cell apoptosis in pathogenic and nonpathogenic primate lentiviral infections. *Immunology*, 91: 9431-9435.
- 10.Galle P R (1997):** Apoptosis in liver disease. *Journal of Hepatology*, 27: 405-412.
- 11.Gavrieli Y, Sherman Y, Shmuel A, Sason B (1992):** Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *The Journal of Cell Biology*, 119 (3): 493-501.
- 12.Giannetti L, Consolo U, Magnoni C, Muzio L L (2004):** Apoptosis; escaping strategies in human skin cancer. *Oncology Reports*, II: 401-405.
- 13.Guimaraes C A, Linden R (2004):** Programmed cell death; apoptosis and alternative deathstyles. *Eur. J. Biochem.*, 271: 1638-1650.
- 14.Gürbilek M, Dağlar C, Aköz M, Topçu C (2004):** Diabetes mellituslu hastalarda hastalık süresinin eritrosit membranı Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi, lipid peroksidasyonu ve DHEA(S), glukoz, lipid düzeyleri üzerine etkisi. *Turkish Journal of Biochemistry*, 29 (3): 237-242.
- 15.Güvenç T (2002):** İnfeksiyöz bursal hastalığın immunoperoksidaz tekniği ile tanısı ve B lenfositlerde apoptozisin incelenmesi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara.
- 16.Herrmann M, Kalden J R (2003):** Apoptosis and autoimmunity, Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. KGaA, University of Erlangen-Nuremberg, Institute for Clinical Immunology, Weinheim, Germany.
- 17.Hıkım A P S, Wang C, Leung A R, Swerdloff S (1995):** Involvement of apoptosis in the induction of germ cell degeneration in adult rats after gonadotropin-releasing hormone antagonist treatment. *Endocrinology*, 136 (6): 2770-2775.
- 18.Huppertz B, Frank H G, Kaufmann P (1999):** The apoptosis cascade; morphological and immunohistochemical methods for its visualization. *Anat. Embryol.*, 200: 1-18.
- 19.Kaneda K, Kashii S, Kurosawa T, Kaneko S, Akaike A, Honda Y, Minami M, Satoh M (1999):** Apoptotic DNA fragmentation and upregulation of Bax induced by transient ischemia of the rat retina. *Brain Research*, 815: 11-20.
- 20.Kanoh M, Takemura G, Misao J, Hayakawa Y, Aoyama T, Nishigaki K, Noda T, Fujiwara T, Fukuda K, Minatoguchi S, Fujiwara H (1999):** Significance of myocytes with positive DNA in situ nick end-labeling (TUNEL) in hearts with dilated cardiomyopathy not apoptosis but DNA repair. *Circulation*, 99: 2757-2764.
- 21.Katano H, Pesnicak L, Cohen J I (2004):** Simvastatin induces apoptosis of Epstein-Barr virus (EBV)-transformed lymphoblastoid cell lines and delays development of EBV lymphomas. *PNAS*, 101: 4960-4965.
- 22.Kerr J F R, Winterford C M, Harmon B V (1994):** Apoptosis; its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer*, 73 (8): 2013-2026.
- 23.Kültürsay H, Kayıkçıoğlu M (2002):** Apoptozis ve kardiyovasküler hastalıklar. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi*, 4: 323-329.
- 24.Mehmet H (2006):** Detection of mitochondrial events in apoptosis, Apoptozis, Hastalıklarla İlişkisi ve Güncel Belirleme Yöntemleri Kursu. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- 25.Mcphie D L, Coopersmith R, Peralta A H, Chen Y, Ivins K J, Manly S P, Kozlowski M R, Neve K A, Neve R L (2003):** DNA synthesis and neuronal apoptosis caused by familial alzheimer disease mutants of the amyloid precursor protein are mediated by the p21 activated kinase PAK3. *The Journal of Neuroscience*, 23 (17): 6914-6927.
- 26.Nagata S (1997):** Apoptosis by death factor. *Cell*, 88: 355-365.
- 27.Nishihara H, Kondoh S K, Insel P A, Eckmann L (2003):** Inhibition of apoptosis in normal and transformed intestinal epithelial cells by cAMP through induction of inhibitor of apoptosis protein (IAP)-2. *PNAS*, 100: 8921-8926.
- 28.Ozeki N, Mogi M, Nakamura H, Togari A (2002):** Differential expression of the Fas-Fas ligand system on cytokine-induced apoptotic cell death in mouse osteoblastic cells. *Archives of Oral Biology*, 47: 511-517.
- 29.Öktem S, Özhan M H, Özol D (2001):** Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi*, 2 (1): 91-95.
- 30.Öztürk F (2002):** Apoptoz. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 9 (2): 143-148.
- 31.Özvaran M K (2004):** Malign mezotelyomada gen tedavisi. *Toraks Dergisi*, 5 (2): 110-115.

- 32.Piret J P, Arnould T, Fuks B, Chatelain P, Remacle J, Michiels C (2004):** Caspase activation precedes PTP opening in TNF-a-induced apoptosis in L929 cells. *Mitochondrion*, 3: 261-278.
- 33.Rashed M M, Ragab N M. (2004):** The pattern of expression of the apoptotic inducer fas and the apoptotic inhibitor bcl-2 oncogenes immunohistochemically in bone-marrow invaded by the non-hodgkin lymphomas. *Turk. J. Haematol.*, 21 (3): 141-147.
- 34.Roshal M, Zhu Y, Planelles V (2001):** Apoptosis in AIDS. *Apoptosis*, 6: 103-116.
- 35.Saraste A, Pulkki K (2000):** Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis. *Cardiovascular Research*, 45: 528-537.
- 36.Staley K, Blaschke A J, Chun J (1997):** Apoptotic DNA fragmentation is detected by a semiquantitative ligation-mediated PCR of blunt DNA ends. *Cell Death and Differentiation*, 4: 66 -75.
- 37.Stassi G (2006):** Detection of apoptosis in tissues, Apoptozis, hastalıklarla ilişkisi ve güncel belirleme yöntemleri kursu. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- 38.Tomatır A G (2003):** Apoptoz; programlı hücre ölümü. *T. Klin. J. Med. Sci.*, 23: 499-508.
- 39.Ulukaya E (2007):** Apoptozis ders notları. Erişim: <http://biyokimya.uludag.edu.tr/apoptozisdersnotu.pdf>, Erişim tarihi: 04.05.2007.
- 40.Vairetti M, Ferrigno A, Bertone R, Richelmi P, Berte F, Freitas I (2005):** Apoptosis vs. necrosis: glutathione-mediated cell death during rewarming of rat hepatocytes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1740: 367- 374.
- 41.Walker P R, Leblanc J, Smith B, Pandey S, Sikorska M (1999):** Detection of DNA fragmentation and endonucleases in apoptosis. *Enzymology*, 17: 329-338.
- 42.Watanabe I, Toyoda M, Okuda J, Tenjo T, Tanaka K, Yamamoto T, Kawasaki H, Sugiyama T, Kawarada Y, Tanigawa N (1999):** Detection of apoptotic cells in human colorectal cancer by two different in situ methods; antibody against single-stranded DNA and terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end-labeling (TUNEL) methods. *Jpn. J. Cancer Res.*, 90: 188-193.
- 43.Wijsman J H, Jonker R R, Keijzer R, Velde C J H, Cornelisse C J, Dierendonck J H V (1993):** A new method to detect apoptosis in paraffin sections; in situ end-labeling of fragmented DNA. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 41 (1): 7-12.
- 44.Willingham MC (1999):** Cytochemical methods for the detection of apoptosis. *The Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 47 (9): 1101-1109.
- 45.Wright S C, Wei Q S, Kinder D H, Larrick J W (1996):** Biochemical pathways of apoptosis; nicotinamide adenine dinucleotide-deficient cells are resistant to tumor necrosis factor or ultraviolet light activation of the 24-kd apoptotic protease and DNA fragmentation. *J. Exp. Med.*, 183: 463-471.
- 46.Yılmaz İ (2005):** Erişkin ratlarda deneysel varikozel oluşturulması sonrası testislerde germ hücrelerinde apoptozis düzeylerinin yükselmesi ve yükselmiş olan apoptozisin varikoselektomi sonrası gerileme düzeyi ve süresinin TUNEL yöntemi ile değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği, İstanbul.
- 47.Zhang J, Xu M (2002):** Apoptotic DNA fragmentation and tissue homeostasis. *Trends in Cell Biology*, 12 (2): 84-89.