

Apoptoz: İnfeksiyon Hastalıkları Patogenezindeki Yeri

Ergin AYAŞLIOĞLU*, Ayşen GÜNEL ÖZCAN**

* Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
** Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, KIRIKKALE

Multiselüler organizmalarda hücre sayısının kontrolü, hücre çoğalması ve hücre ölümü arasındaki dengenin devamı ile sağlanır. Apoptoz, programlı ve fizyolojik bir ölüm şekli olması nedeniyle, bu dengenin sürdürülmesinde önemli rol oynar. Apoptoz, embriyogenez ve hormona bağlı atrofide gözlenen bir süreçtir. Ayrıca, apoptoz immün cevabın oluşmasında da önemli rol oynar. Fizyolojik hücre ölümü uzun yıllardır bilinen bir kavram olmasına rağmen, apoptoz terimi ilk kez 1972 yılında Kerr ve arkadaşlarının ölen hücrede gelişen karakteristik yapısal değişiklikleri belirlemeleri ve bu süreci apoptoz olarak tanımlamaları ile kullanılmaya başlanmıştır^[1]. Günümüzde hücre proliferasyonu kadar kompleks bir süreç olan hücre ölümü üzerinde önemle durulmakta, apoptozu düzenleyen mekanizmalar hızla açıklığa kavuşmakta, bu olayı uyaran veya inhibe eden birçok sinyal tanımlanmaktadır^[2-4].

Hücre ölümü; nekroz ve apoptoz olmak üzere başlıca iki şekilde meydana gelir. Nekroz ve apoptoz arasında biyokimyasal ve morfolojik belirgin değişiklikler vardır (Şekil 1)^[5]. Nekroz, kimyasal ve fiziksel zararlanmaları takiben ortaya çıkan patolojik bir ölüm şeklidir. Erken dönemlerden itibaren hücre membranı hasarlanır, hücre şişerek rüptüre olur. Hücre içeriği çevre dokuya yayılarak, inflamatuvar

bir cevaba neden olur. Apoptotik hücrede, nekrozun aksine en çarpıcı değişiklik çekirdekte meydana gelir. Hücre küçülür, yüzeyinde blebler (sitoplazmik çıkıntılar) meydana gelir. Sitoplazmada yoğunlaşma, hücre dansitesinde artma ve çekirdek membranına yakın bölgelerden başlayarak kromatinde yoğunlaşma görülür. Daha sonra tüm nükleus kondanse olur ve DNA'nın fragmentasyonu meydana gelir. Her biri membranla kaplı birçok apoptotik cisimcik oluşur. Komşu hücreler ya da fagositler tarafından bu apoptotik cisimcikler fagosite edilerek dokudan hızla uzaklaştırıldığı için inflamatuvar reaksiyon görülmez. Bu nedenle apoptoz sakin bir ölüm şeklini ifade eder. Ancak apoptoz ve nekroz arasındaki ayrım genellikle çok net bir şekilde ortaya konamayabilir. Bazı hücreler hücre ölümüne hem nekroz hem de apoptoz belirtileri ile gider^[6].

APOPTOZ MEKANİZMALARI

Apoptoz, çok sayıda düzenleyici mekanizmanın işe karıştığı kompleks bir süreçtir. Çoğu zaman apoptozun indüksiyonu, kaspazlar isimli sitozolik enzimlerin aktivasyonunu gerektirir.

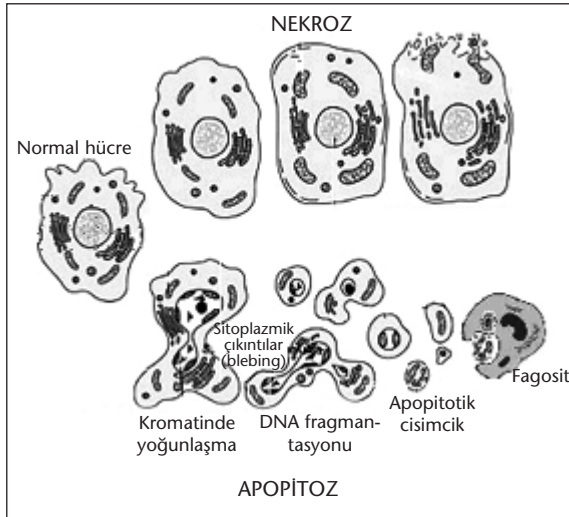
Kaspazlar

Bir sistein proteaz yani, aktif bölgesinde sistein bulunan proteazlar olan kaspazlar, hem apoptoz hem de proinflamatuvar sitokinlerin aktivasyonu için gerekli enzimlerdir. Bu moleküller, substratının karboksil ucundaki aspartik asit kısımlarını kestiklerinden dolayı kaspazlar olarak adlandırılmışlardır. Kas-

Apoptosis: The Role in the Pathogenesis of Infectious Diseases

Key Words: Apoptosis, Infection

Anahtar Kelimeler: Apoptoz, İnfeksiyon



Şekil 1. Nekroz ve apoptoz ile uyumlu morfolojik değişiklikler gösteren iki hücre. Nekrozda, hücre membranı hasarlanır, hücre şişerek rüptüre olur. Hücre içeriği çevre dokuya yayılır. Apoptotik hücrede en çarpıcı değişiklik çekirdekte meydana gelir. Hücre küçülür, yüzeyinde blebing (sitoplazmik çıkıntılar) oluşur. Hücre membranı bütünlüğünü korur, nükleer kromatin yoğunlaşır, DNA'nın fragmentasyonu gelişir. Her biri membranla kaplı apoptotik cisimcikler oluşur ve komşu hücreler ya da fagositler tarafından bu apoptotik cisimcikler fagosite edilerek dokudan uzaklaştırılır.

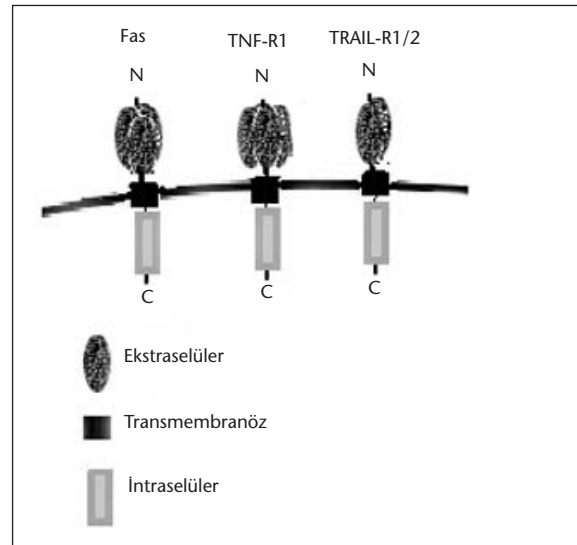
pazlar inaktif olarak sentezlenir (zimojen) ve tek bir polipeptid zincirinden oluşur. Daha sonra spesifik aspartatlar proteolitik kesime uğrayarak aktif hale geçer. Aktif kaspaz, iki katalitik alt birim içeren bir dimerdir. Aktivasyon sinyali, ekstraselüler ölüm sinyalinin yüzey reseptörüne bağlanması veya mitokondriden spesifik proteinlerin serbestleşmesi ile sağlanır. Kaspazlar bir kez aktive olunca diğer kaspazların kesimine sebep olur. Böylelikle dönüşü olmayan ve hücre ölümüne yol açan süreç başlar. Ancak kaspaz aktivasyonu olmadan apoptozun gerçekleşebildiği durumlar olduğu gibi, bazı kaspazların aktivasyonu ile seyreden nekroz da olabilir. Hücre ölümüne yol açmayan kaspaz aktivasyonu da gösterilmiştir^[7]. Ayrıca, tüm kaspazlar apoptozda rol oynamaz. "Knock-out" farelerde yapılan çalışmalar kaspaz 1, kaspaz 2 ve kaspaz 11'in çıkarıldığı farelerin normal geliştiğini, kaspaz 7 ve kaspaz 8 "knock-out"ların embriyonik ölümle sonuçlandığını göstermiştir^[8].

Bir hücrede apoptozun başlatılması yukarıda da değinildiği üzere başlıca iki aktivasyon yolu ile gerçekleşir: Hücre ölüm reseptörleri yolu ve mitokondrial yol. Tanımlanan iki ana apoptozis yolağından

biri, kaspaz 8 [FADD benzeri interlökin (IL)-1 konvertir enzim (FLICE)] ve kaspaz 10'u aktive eder. Diğeri ise, kaspaz 9'u aktive eder. Kaspaz 8 ve kaspaz 10'u aktive edenler Fas ve diğer ölüm reseptörleridir. Kaspaz 9'un aktivasyonu ise mitokondri aracılığı ile olur.

1. Hücre ölüm reseptörleri yolu ile apoptoz (ekstresek yol): Hücre ölüm reseptörleri, apoptozun indüklenmesinde rol oynayan TNF/NGF ailesine ait hücre yüzey reseptörleridir. Bu ailenin üyeleri, hücre proliferasyonu ve programlı hücre ölümünü denetleyen transmembran proteinleridir. Bu gruptaki proteinlerin, sisteinden zengin ekstraselüler, transmembranöz ve intraselüler olmak üzere üç kısmı vardır (Şekil 2). Fas reseptör (Fas, FasR), tümör nekroz faktörü reseptör 1 (TNF-R1) ve TRAIL-R1, R2 (TNF ilişkili apoptoz indükleyen ligand reseptörleri), T-hücresi apoptozunun başlatılmasında etkili olduğu bilinen ölüm reseptörleridir. Ayrıca, liganda bağlanmak için ölüm reseptörleri ile yarışan üç tane decoy reseptörü bulunmaktadır (DcR1, 2 ve 3). Decoy reseptörleri apoptozun kontrolünde rol oynar^[9].

Fas reseptörü, en iyi karakterize edilmiş ölüm reseptörüdür ve çeşitli immünolojik süreçlerde anahtar rol oynar^[10]. Fas reseptör ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmış, değişik hastalıklarla ilişkisi belirlenmeye çalışılmıştır^[11-13]. Fas ligandın (FasL), Fas ile etki-



Şekil 2. Hücre ölüm reseptörlerinin yapısı. Bu reseptörler tip II transmembran proteinleri olup ekstraselüler, transmembranöz ve intraselüler olmak üzere üç kısımdan oluşur. Ölüm domeyni içeren intraselüler kısım apoptoz sinyalini vermekte önemli olmaktadır.

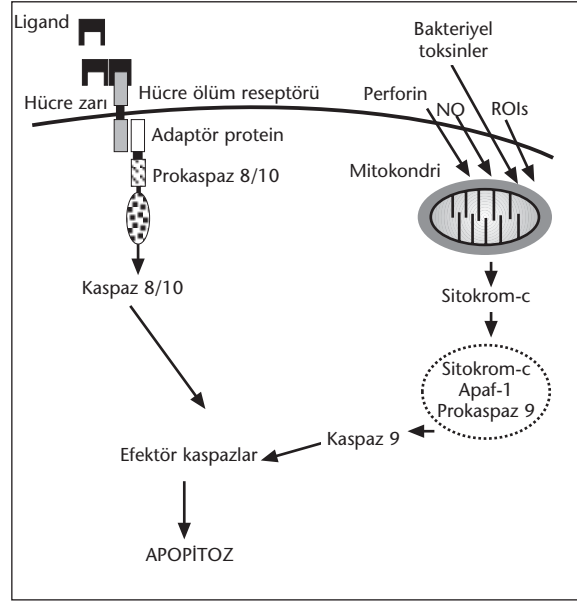
leşimi sonucu apoptoz sinyali yüzeyinde Fas ekspres edilen hücreye iletilir ve Fas ekspresyonu olan hücrede apoptoz ile ölüm gelişir^[10]. Bir antijenik uyarımı takiben T-hücrede Fas reseptör ekspresyonu artmakta ve bu hücre FasL ile verilecek ölüm emri için duyarlı hale gelmektedir. Yüzeyinde Fas ekspresyonu gelişen bir T-lenfosit, antijen sunan hücre (APC), komşu T-lenfositler ve hatta kendi yüzeyinde ekspres edilen Fas ligand yolu ile apoptoz sinyallerini alabilmektedir. Fas ligand-Fas reseptör etkileşimi özellikle CD4⁺ T-hücre apoptozunda etkilidir. Hücre yüzeyinde Fas ekspresyonu tümör süpresör proteini p53 ile regüle edilebilir. Bu düzenlenme, transkripsiyonu artırma yolu ile veya golgi cisimciğinden geçiş esnasında olabilir. Fas, bir adaptör molekül aracılığı ile intraselüler ileti yoluyla sinyal verir.

TNF reseptörlerin uyarımı aslında bir hücre için hem yaşam sinyalleri hem de ölüm sinyalleri vermektedir. Bu nedenle bu yolla apoptozun başlatılması biraz daha karışıktır. Bir infeksiyon geliştiğinde başlıca makrofajlar ve T-hücreleri olmak üzere çok sayıda hücreden salınımı artan TNF- α , TNF-R1 ve TNF-R2 olmak üzere iki ayrı reseptöre bağlanır. Ancak sadece TNF-R1 hücre içi ölüm domeyni vardır ve apoptoz sinyalini hücreye vermektedir. TNF- α ve TNF-R1 etkileşiminin başlıca CD8⁺ T-hücre apoptozunda etkili olduğu gösterilmiştir^[14].

TRAIL-R1 ve TRAIL-R2 (TNF-bağlantılı apoptoz indükleyicisi ligand reseptörleri) son zamanlarda ortaya konmuştur. Dendritik hücreler gibi antijen sunumu yapan hücreler üzerinde ekspres edilmektedir^[15].

Hücre ölüm reseptörleri yolu ile apoptoz gelişimi Şekil 3'te görülmektedir. Ölüm reseptörlerinin ölüm domeyni denilen ve adaptör protein ile bağlanan hücre içi kısımları vardır. Hücre ölüm reseptörleri kendi ligandları ile uyarıldığında FADD (fas ilişkili ölüm domeyni) gibi bu adaptör proteinlerle bağlanmaktadır. Ligand ile bağlanmış ölüm reseptörünün adaptör protein ile etkileşimi, apoptozun başlatıcısı olarak bilinen kaspaz 8/10'un aktivasyonunu sağlar. Aktif kaspaz 8/10, efektör kaspazları aktifler. Kaspaz 3 ve 7 efektör kaspazlar olup, bunların aktivasyonu ile hücrede kromatin kondensasyonu, DNA fragmentasyonu gibi apoptozise ait karakteristik, morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler gelişmektedir^[16,17].

2. Mitokondrial yol ile apoptoz (intrensek yol): Apoptozu neden olan ikinci yol mitokondrium ile düzenlenmektedir. Makrofaj aktivasyonunu takiben gelişen reaktif oksijen türevleri (ROIs), nitrik oksit (NO), IFN- γ sekresyonu, sitotoksik T-hücrelerinin



Şekil 3. Bir hücrede apoptozun başlatılması için başlıca iki aktivasyon yolu vardır. 1. Hücre ölüm reseptörleri yolu ile apoptoz. Hücre ölüm reseptörü ligandı ile uyarıldığında sitoplazma içindeki kısımları adaptör proteinlerle bağlanır. Ölüm reseptörünün adaptör protein ile etkileşimi kaspaz 8/10'un aktivasyonunu sağlar. Apoptozun başlatıcısı olarak bilinen kaspaz 8/10'un aktivasyonu ise efektör kaspaz yolunun aktivasyonunu başlatır ve hücrede apoptoz ile uyumlu morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler gelişir. 2. Mitokondrial yol ile apoptoz. Bakteriye toksinler, nitrik oksit (NO), reaktif oksijen türevleri (ROIs), perforin sekresyonu mitokondrium üzerinde etkilidir. Mitokondriumdan salınan sitokrom-c Apaf-1 (apoptotik proteaz aktive edici faktör)'e bağlanır ve prokaspaz 9 ile etkileşime girerek kaspazlar yolu aktive edilir. Efektör kaspazların aktivasyonu, her iki yol için ortak noktadır.

perforin sekresyonu ve bakteriye toksinler, radyasyon, kemoterapötikler, mitokondrium üzerinde etkili olmaktadır. Bu yolla mitokondriuma ulaşan apoptotik uyarı sonucu sitokrom-c salınır. Sitokrom-c, Apaf-1 (apoptotik proteaz aktive edici faktör)'e bağlanır ve prokaspaz 9 ile etkileşime girerek kaspaz 9'u aktive eder. Mitokondri apoptozu kaspazlardan bağımsız olarak da uyarabilir. Bunu apoptozu indükleyen faktör (AIF) ile gerçekleştirir. Ancak son çalışmalar AIF'nin DNA-bağlayıcı bölgesinin proapoptotik özelliğe, redoks-aktif enzimatik bölgesinin ise antiapoptotik özelliğe sahip olabileceğini göstermektedir^[18]. Mitokondrium membranında diğer bir iyon kanalını oluşturan Bax proteini ise sitokrom-c salınımını sağlayarak kaspazdan bağımsız apoptozise yol

açar¹⁹). Hepatosit gibi bazı hücrelerde ölüm reseptörleri yoluyla gelişen apoptozda mitokondri de işe karışmaktadır. Bu hücrelerde aktif kaspaz 8/10 Bid proteinini etkileyerek, mitokondriden sitokrom-c salınımı indüklemektedir²⁰.

Efektör kaspazların (kaspaz 3 ve kaspaz 7) aktivasyonu ise her iki yol için ortak noktadır^{16,17} (Şekil 3).

Apoptoz İnhibitörleri

Apoptozun düzenlenmesinde yer alan ve inhibitör etki yapan bazı proteinler vardır. Bu programlı hücre ölümünün inhibisyonu, hücre çoğalmasının kontrol dışı kalmasına neden olur. Bcl-2 ailesinden Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-w bunlar arasında üzerinde en fazla durulan ve mitokondrium üzerinde sitokrom-c salınımını inhibe ederek ya da Apaf-1'e bağlanıp (Bcl-XL) sitokrom-c: Apaf-1: prokaspaz-9 kompleksinin oluşumunu engelleyerek etki gösteren antiapoptotik proteinlerdir²¹. Bu moleküllerin değişik kanser tipleriyle ilişkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca, Bcl-2 ve Bcl-x'in T veya B lenfositlerinde transgen olarak fazla ekspresyonunun immatür lenfositlerinin yaşam süresinin artmasına ve uzamış immün cevaba sebep olduğu gösterilmiştir²². c-FLIP ise prokaspaz 8/10'un aktivasyonunu engelleyerek apoptozu inhibe eden bir proteindir²³. Isı şoku proteinleri (HSP27, HSP70 ve HSP90) de sitokrom-c ve Apaf-1 ile etkileşime geçerek apoptoz inhibisyonu yapabilirler²⁴.

Apoptozis fizyolojik bir süreç olmakla birlikte, patolojik bir uyarı sonucu ile de oluşabilir. İdiyopatik CD4⁺ T-hücre lenfopenide apoptozisin disregülasyonu mevcuttur. Herhangi bir patojenik sebep olmadan progresif T-lenfosit deplesyonu ile karakterizedir. Burada, CD4⁺ T-lenfositlerinin Fas-aracılı apoptozise artmış duyarlılığı görülür²⁵. Sistemik lupus eritematozus (SLE), hepatitlerin ve kardiyomyopatilerin bazı formları, çeşitli nörodejeneratif hastalıklar ve akut graft-versus-host hastalığı gibi birçok hastalık, apoptozis düzeylerindeki değişikliğe bağlı olarak ortaya çıkar²⁶⁻²⁹. Fas mutasyonları sonucu fizyolojik apoptozis inhibe olarak, fenotipik olarak otoimmün lenfoproliferatif sendroma (ALPS) yol açar³⁰. Bu sendromda çocukluk yaşında lenfoproliferasyon, lenfadenopati ve glomerülonefrit ile karakterize lupus benzeri tablo hakimdir.

APOPTOZUN BELİRLENMESİNDE KULLANILAN LABORATUVAR YÖNTEMLERİ

Morfolojik Değişikliklerin Saptanması

Apoptozla uyumlu değişiklikler, hücre membran bütünlüğünün korunuyor olması, sitoplazmik çıkıntı-

lar (blebbing), sitoplazmada küçülme, nükleusta kondensasyon ile apoptotik cisimciklerin tespiti mümkün olabilir^{3,31} (Şekil 4).

DNA Fragmentasyonunun Saptanması

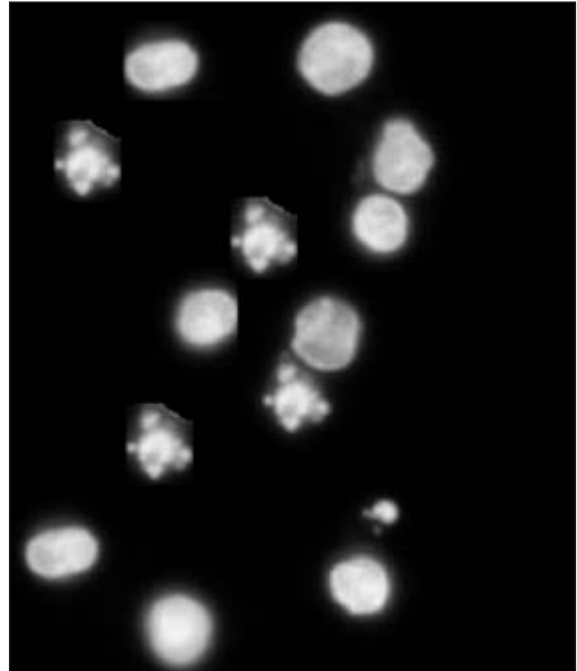
DNA'nın izole edilerek, %1'lik agaroz-jelde analizi ve apoptozu ait tipik paternin (DNA ladder) görülmesi etkili bir yöntemdir (Şekil 5). DNA fragmentasyonunu belirlemek üzere flow-sitometrik yöntem, ELISA yöntemleri geliştirilmiştir. Dokuda apoptozu belirlemekte ise TUNEL (TdT-mediated dUTP nick end labeling) tekniği kullanılmaktadır^{32,33}.

Kaspaz Aktivitesinin Tayini

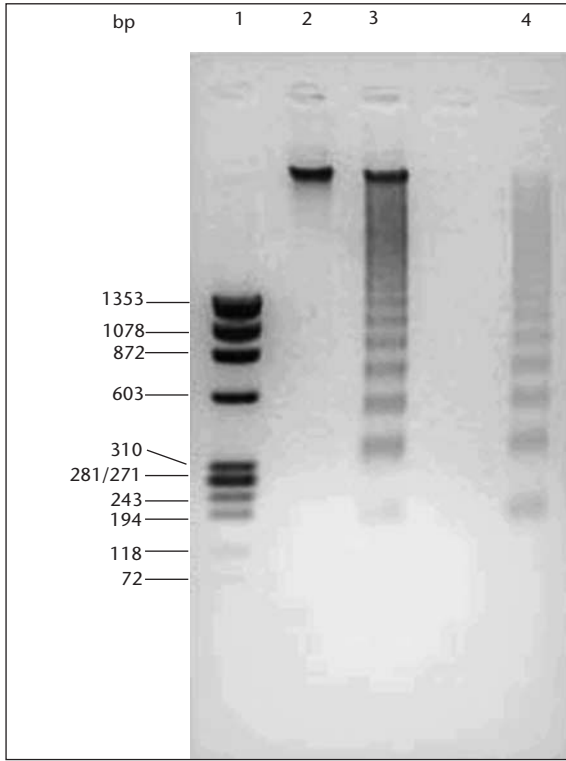
Apoptoz sinyalinin hücreye verilmesiyle, kaspazların aktivasyonu apoptozu başlatmakta takiben efektör kaspazların aktivasyonu ve DNA fragmentasyonu gelişmektedir. Apoptozun belirlenmesinde kaspazların aktivasyonunun belirlenmesi değerli olmaktadır.

Hücre Yüzey Değişiklikleri

Apoptozda, ölen hücrenin fagositler tarafından tanınması ve fagositozunu kolaylaştıran bazı hücre yüzey değişiklikleri gelişmektedir. Bu hücre yüzeyin-



Şekil 4. Apoptotik hücreyi belirlemek üzere spesifik olarak DNA'yı boyayan mavi floresan boya DAPI (4',6-Diamidino-2'-fenilindol dihidroklorid) kullanılmış. Florokromun kullanılmasıyla apoptotik cisimcikler ve sitoplazmik çıkıntılar (blebbing) görülebiliyor (56 nolu kaynaktan adapte edilmiştir).



Şekil 5. DNA fragmentasyonunun belirlenmesinde DNA'nın izole edilerek, %1'lik agaroz jelde analiz. Apoptoza ait tipik paternin (DNA ladder) görülmesi etkili ve kolay bir yöntemdir. Sıra 3 ve 4'te apoptoz induksiyonu yapılmış ve DNA fragmentasyonu gelişmiş bir patern (DNA ladder) görülmüştür (56 nolu kaynaktan adapte edilmiştir).

deki değişikliklerin ölçümünü temel alan yöntemler geliştirilmiştir. Anneksin V, apoptozda hücre yüzeyindeki dağılımı ve yeri değişen fosfolipidlerini (PS) bağlayan bir proteindir. Apoptozun başlangıcında PS, lokalize olduğu membranın iç kısmından dış kısmına doğru yer değiştirir. Apoptotik hücre ölümünün erken dönemde saptanmasını sağlamaktadır.

İNFEKSİYON HASTALIKLARI PATOGENİZİNDE APOPTOZ

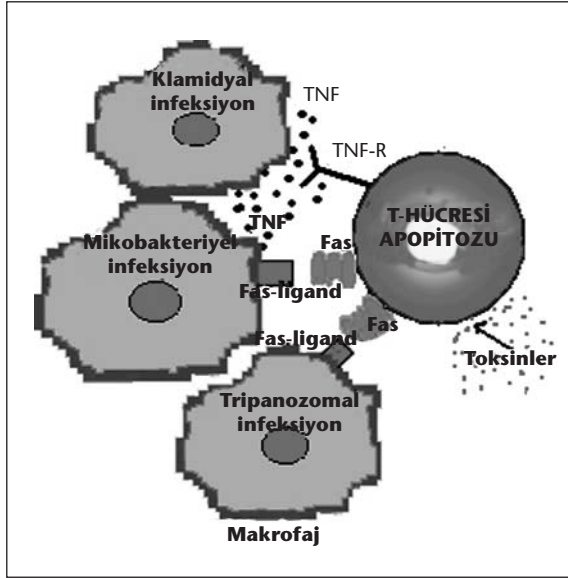
İnfeksiyon hastalıkları kapsamında apoptoz, patojene karşı konakta gelişecek immün cevabın düzenlenmesinde yer alan bir süreçtir. Bir infeksiyon geliştiğinde, antijen spesifik T-hücreleri hızla artar. Bir süre sonra T-hücre çoğalması apoptozun indüklenmesi ile kontrol altına alınır. Bu, T-hücre homeostazi ve lenfoproliferasyonun kontrol edilmesi açısından önemli olmaktadır. T-hücrelerinde aktivasyonla birlikte indüklenen hücre ölümü (AICD), başlıca hücre ölüm reseptörlerinin uyarılması yolu ile oluşur. T-hücrelerinin bir antijenle uyarımı ve çoğalmasını taki-

ben bir süre sonra aynı hücrede apoptozda rol oynayan reseptör ve ligandlar eksprese olmaya başlar. Bu şekilde bir aktif T-hücresi, kendisi apoptozunu başlatabilmekte ve diğer T-hücreleri için apoptotik sinyaller verebilmektedir. T-hücresinde apoptozu başlatan diğer bir hücre grubu da antijen sunan hücreler (APC)'dir. T-hücre apoptozunun başlaması için T-hücresinin özellikle APC başta olmak üzere, diğer komşu hücrelerle etkileşime girmesi gerekmektedir. APC, T-hücrelerinde hücre ölüm reseptör ve ligandlarının ekspresyonunu sağlayarak, IFN- γ gibi sitokinlerin sekresyonu ile pro-apoptotik veya antiapoptotik sinyaller vermektedir^[34,35].

Mikroorganizmalar bu fizyolojik hücre ölüm yolunu kendi amaçları için kullanmaya çalışırlar. Konak hücrelerinde apoptozu arttırarak ve azaltarak kendilerine karşı gelişecek koruyucu cevap üzerinde etkili olmaktadır. Apoptozun infeksiyon hastalıkları patogenezinde önemli rolü olduğu bilinmektedir. AIDS'de apoptozun aktivasyonuna bağlı olarak T-lenfositlerinde belirgin bir azalma ve immün sistemin baskılanması söz konusu iken, Epstein-Barr virüs apoptozu inhibe eden ve değişik kanser türlerinde etkili olduğu bilinen bcl-2 ile homolog bir gen kodlamaktadır^[36,37].

Bakteriyel ve Protozoal İnfeksiyonlarda Apoptozun Rolü

Bu mikroorganizmalar, kendilerine karşı koruyucu cevapta oluşan antijen-spesifik T-hücre apoptozunu arttırarak kendi yaşama şanslarını arttırmaya çalışırlar. Hücre içi yerleşim gösteren bakteriler veya protozoanlar T-hücre apoptozunu hücre ölüm reseptörlerini kullanarak başlatmaktadır. Klamidyia, mikobakteri ve tripanozom türleri için bu yol ayrıntılarıyla gösterilmiştir^[17] (Şekil 6). Bu patojenler makrofajlar içinde yaşayabilen, hatta çoğalabilen ve persistan infeksiyon oluşturan patojenlerdir. Yaşamlarını sürdürebilmeleri için içinde buldukları hücrenin bütünlüğünü devam ettirmesi gerekir ve bu mikropsesifik T-hücrelerinin apoptozu ile sağlanır. Klamidyal infeksiyonda T-hücrelerinin apoptoz yoluyla ölümünde makrofajdan TNF- α sekresyonu ve T-hücre üzerindeki TNF reseptör ile etkileşimi etkin olmaktadır^[38]. Bilindiği gibi lipopolisakkarid (LPS) makrofajdan TNF- α sekresyonuna neden olmaktadır. T-hücre apoptozunda klamidyal LPS'nin önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Mikobakteri türlerinin apoptozu indüklediği görülmüştür. Mikobakteriler infekte makrofajda hem TNF- α hem de Fas ligand ekspresyonuna neden olarak T-hücre apoptozunu arttırmaktadırlar^[39]. Tripanozomal infeksiyon-



Şekil 6. Hücre içi yerleşim gösteren bakteriler veya protozoanlar T-hücre apoptozunu hücre ölüm reseptörlerini kullanarak başlatmaktadır. Klamidyal enfeksiyonda makrofajdan TNF- α sekresyonu ve T-hücre üzerindeki TNF reseptörü ile etkileşimi apoptozu başlatmaktadır. Mikobakteriler ise infekte makrofajda hem TNF- α , hem de FasL ekspresyonuna neden olarak T-hücre apoptozunu arttırmaktadırlar. Tripanozomal enfeksiyonlarda T-hücre apoptozunu başlatan yol yine Fas reseptör/Fas ligand etkileşimidir. Ekstraselüler yerleşimli bakterilerden salgılanan toksinler ise direkt T-hücre membranını ve mitokondrium üzerine etkili olmaktadır (17 nolu kaynaktan modifiye edilmiştir).

larda T-hücre apoptozunu başlatan yol yine Fas reseptör/Fas ligand etkileşimidir^[40]. Ekstraselüler yerleşimli bakterilerden salgılanan toksinler ise direkt T-hücre membranına veya mitokondrium üzerine etkili olmaktadır. Bu enfeksiyonlarda hücre ölüm reseptörleri yolu çok etkin olmamaktadır. Bunlar arasında *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pyogenes*'e ait süperantijenler ve α -toksin, lökotoxin, α -hemolizin ve toksin-A'nın T-hücre apoptozunu indüklediği gösterilmiştir^[41].

Bir enfeksiyon geliştiğinde, immün cevapta T-hücreleri önemli olmaktadır. CD8⁺ T-hücreleri direkt sitotoksiste gösterirken, CD4⁺ T-hücreleri IFN- γ gibi sitokinler salgılayarak mikroorganizma ile infekte olmuş makrofajların antimikrobiyal potansiyelini arttırmaktadırlar. Makrofaj içinde yerleşen bir mikroorganizma ise içinde yerleştiği makrofajın T-hücresi için apoptotik sinyaller vermesini sağlayarak T-hücre apoptozunu başlatmakta, böylelikle kendi yaşam şansını arttırmaktadır. Bilindiği gibi apoptoz gelişti-

ğinde ölen hücre, doku hasarlanması ve inflamatuvar bir yanıt olmadan ortadan kaldırılmaktadır. Apoptoza giden bir T-hücresinden immün cevabı baskılayıcı özelliği olan sitokinler TGF- β ve IL-10 salınımının inflamasyon gelişmemesinde etkin olduğu düşünülmektedir. T-hücre apoptozunda ortaya çıkan bu immünsüpresif durum aynı zamanda mikrobiyal persistansı arttırmakta ve immün cevabı Th-2 yönüne kaydırmaktadır^[42].

Viral Enfeksiyonlarda Apoptozun Rolü

Viral enfeksiyonlara karşı konakta gelişen immün cevabın düzenlenmesinde apoptoz önemli bir rol oynamaktadır. Birçok viral enfeksiyonda konak virüsle infekte hücrenin apoptozunu sağlayarak virüsün çoğalmasını önlemeye çalışır. Yapılan çalışmalarda, bir hücre virüsle infekte olduğunda hücrede apoptoz sinyalini başlatan çok çeşitli yapısal değişikliklerin geliştiği gösterilmiştir. Viral proteinlerin ekspresyonu veya viral RNA, apoptozla ilişkili olan FasR veya TNFR gibi bazı reseptörlerin uyarımı, p53'ün aktivasyonu, infekte hücrede apoptozu başlatabilmektedir. Buna karşılık virüsler ise Bcl-2 homologları ve kaspaz inhibitörleri gibi bazı antiapoptotik proteinler eksprese ederek apoptozu durdurmaya çalışırlar^[36,43].

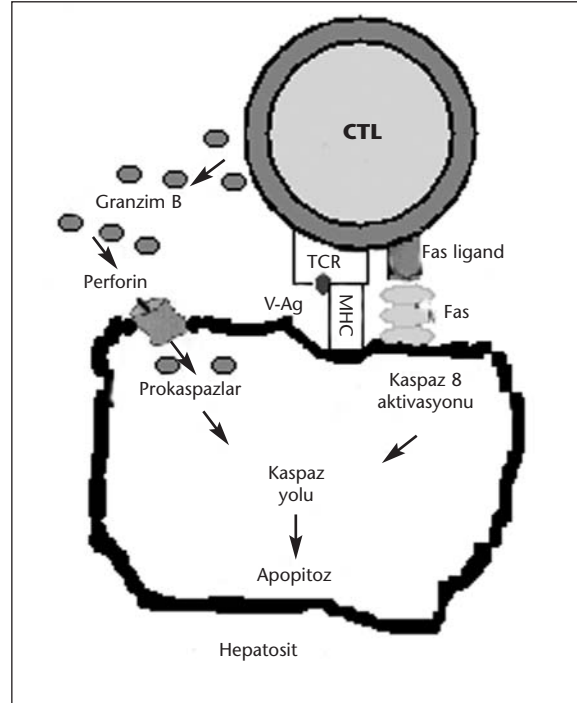
HIV enfeksiyonu ve apoptoz: "Human Immunodeficiency Virus (HIV)" ile enfeksiyon geliştiğinde CD4⁺ T-lenfositleri progresif olarak azalmaya başlar. CD4⁺ T-lenfositlerinin ölümü için çok sayıda teori öne sürülmüştür. Ancak lenfosit apoptozunun hastalık patogenezinde temel olduğu görülmüştür^[44]. HIV ile enfeksiyon hem infekte olan hem de infekte olmamış CD4⁺ T-lenfositlerin apoptozunda artmaya yol açmaktadır. HIV seropozitif kişilerin CD4⁺ T-lenfositlerinde in vitro yapılan çalışmalarda, spontan apoptoz ve aktivasyonla indüklenen apoptoz (AICD) artmış bulunmaktadır^[45]. Buna ek olarak, HIV seropozitif kişilerin lenf nodlarında apoptotik lenfositler açıkça gösterilmiştir^[46]. HIV ile gelişen apoptozda viral proteinler etkili olmaktadır^[47-50]. HIV-1 gp120 CD4⁺ T-lenfositlerde apoptoza duyarlılığı arttırmaktadır. Virüsün lenfositte infekte edilebilmesi için bilindiği gibi gp120'nin lenfosit üzerinde bulunan CD4 ve kemokin reseptörleri ile etkileşime girmektedir. gp120 ile bu reseptörlerin direkt olarak uyarımı apoptozu başlatabilmektedir. Ayrıca, gp120'nin CD4'e bağlanması ile hücrede Fas ekspresyonu artmakta ve Fas/Fas ligand etkileşimi apoptoz gelişiminde önemli bir mekanizma olmaktadır^[51]. Son çalışmalar gp120 ile kemokin reseptörlerinin uyarılmasının da hızlı bir apoptoz gelişim yo-

lu olduğunu göstermiştir. Nöronlar gibi CD4 negatif hücrelerdeki azalmada bu yolun etkin olduğu düşünülmektedir. gp120 dışında HIV ile ilişkili çok sayıda protein apoptoz üzerine etkili olmaktadır. Apoptozun uyarımını sağlayan diğer HIV proteinleri tat, nef, vpr ve proteazlardır. Tat ve nef, Fas/FasL etkileşimi ile apoptozu aktive etmekte, HIV proteaz bir apoptoz inhibitörü olan molekül Bcl-2'nin parçalanması ile apoptozu indüklemekte, vpr ise mitokondri yol üzerinde etkili olarak apoptozu başlatabilmektedir. Bilindiği gibi HIV enfeksiyonunda proteaz inhibitörleri ile tedavi, dolaşan viral partiküllerin azalmasına ve CD4⁺ T-hücrelerinde hızla bir artışa neden olmaktadır. Bu etki başlıca HIV proteazının inhibisyonu ile gelişmektedir. Ancak yapılan çalışmalarda proteaz inhibitörlerinin aynı zamanda hücre proteazları üzerinde etkili olarak apoptozu inhibe ettiği gösterilmiştir^[52].

Hepatit virüsleri ve apoptoz: Karaciğer hücresinin apoptozu, viral hepatitlerin patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır. Viral hepatitlerde doku da daha önceden asidofilik cisimcik olarak adlandırılan, aslında apoptozun bir göstergesi olan apoptotik cisimcikler saptanmaktadır. Yapılan çalışmalarda, Fas düzeyi ile viral hepatitlerin aktivitesinin ilişkili olduğu, karaciğer dokusundaki kaspaz aktivitesinin direkt olarak doku hasarı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir^[16,53].

Viral hepatitlerde doku hasarı başlıca sitotoksik T-lenfositleri (CTL) ile oluşan immün cevap sonucu gelişmektedir. Hepatit virüsleri ile enfeksiyon geliştiğinde, sitotoksik T-hücreleri enfekte hepatositi hedef alarak bu hücrede apoptozu uyarılmaktadır (Şekil 7). Hepatosit yüzeyinde MHC sınıf I molekülleri ile eksprese edilen viral epitoplara sitotoksik T-lenfositleri tarafından tanınırlar. Sitotoksik T-lenfositte eksprese edilen Fas ligand hepatosit üzerinde bulunan Fas reseptörle etkileşime girerek ölüm sinyalini hücreye verir. Kaspaz 8 ve takiben efektör kaspazların aktivasyonu ile apoptoz gelişir. Sitotoksik T-lenfositleri ayrıca granzim B ve perforin içeren sitotoksik granüller salgırlar. Granzim B ve perforin sekresyonu prokaspazları aktive ederek hepatosit apoptozunu başlatabilmektedir.

Diğer viral enfeksiyonlarda da apoptozun rolü gösterilmiştir. Sitomegalovirüs (CMV) ve human herpes virüs-6 (HHV-6) enfeksiyonlarında, apoptozun indüklenmesine bağlı olarak lenfopeni gelişir^[54]. Bu enfeksiyonlarda HIV enfeksiyonunda olduğu gibi enfekte olmayan lenfositlerde apoptoz yolu ile yok edilmekte, lenfopeni ve immünsüpresyon gelişmektedir.



Şekil 7. Virüsle enfekte hücrede sitotoksik T-lenfositler ile gelişen apoptoz. Hepatosit yüzeyinde MHC sınıf I molekülleri ile eksprese edilen viral epitoplara sitotoksik T-lenfositleri (CTL) tarafından tanınırlar. Sitotoksik T-lenfositte eksprese edilen Fas ligand hepatosit üzerinde bulunan Fas reseptörle etkileşime girerek ölüm sinyalini hücreye verir. Kaspaz 8 ve takiben efektör kaspazların aktivasyonu ile apoptoz gelişir. Sitotoksik T-lenfositleri ayrıca granzim B ve perforin içeren sitotoksik granüller salgırlar. Granzim B/perforin sekresyonu, prokaspazların aktivasyonu ile apoptozu başlatabilmektedir.

tedir. Epstein-Barr virüs (EBV) ve HHV-8 ise anti-apoptotik stratejiler kullanmaktadır. Bcl-2'nin upregülasyonu ve p53'ün inhibisyonu ile apoptoz inhibe edilmekte, lenfoproliferasyon veya kaposi sarkom gelişebilmektedir. EBV ayrıca, akut enfeksiyon esnasında sitotoksik T-lenfositlerinin direkt olarak apoptozuna neden olarak immün cevabı etkilemektedir^[55]. Görüldüğü gibi, virüsler enfekte oldukları hücrenin apoptozunu inhibe ederek viral çoğalmayı arttırmaya çalışırken, bir yandan diğer immün sistem hücrelerinin apoptozunu arttırarak kendi yaşama şanslarını arttırmaya çalışırlar. Virüsle enfekte hücrenin apoptozu aslında virüse karşı gelişecek koruyucu cevabın bir parçasıdır. Ancak bu koruyucu cevap bazen enfekte olmayan hücrelerde de etkili olmakta, bu durumda immünsüpresyonun artması ve organ spesifik toksisite gibi sonuçlar doğurmaktadır.

Apoptoz multiselüler organizmalarda görülen normal fizyolojik bir süreçtir ve bir enfeksiyon hastalığı geliştiğinde bu fizyolojik ölüm yolu etkilenmektedir. Apoptozun enfeksiyon hastalıkları patogenezinde önemli rolü olduğu bilinmektedir. Bir enfeksiyon geliştiğinde, konak infekte hücrenin apoptozunu sağlayarak enfeksiyon etkeninin çoğalmasını önlemeye çalışır. Mikroorganizmalar ise konak hücrelerinde apoptozu arttırarak ve azaltarak kendilerine karşı gelişecek koruyucu cevap üzerinde etkili olurlar ve yaşam şanslarını arttırmaya çalışırlar. Enfeksiyon etkenlerinin apoptoz üzerine etkilerinin hangi yolla geliştiği, hangi moleküllerin etkin olduğu konusundaki çalışmalar hızla artmaktadır. Enfeksiyonlara bağlı gelişen apoptozun daha iyi anlaşılır hale gelmesi ise enfeksiyon hastalıklarının kontrolünde yeni tedavi yaklaşımlarının getirilebilmesini sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Kerr JE, Wyllie A, Currie AR. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26:239-57.
- Scaffidi C, Kirchhoff S, Krammer PH, Peter ME. Apoptosis signaling in lymphocytes. *Curr Opin Immunol* 1999;11:277-85.
- Wyllie A. A tidy death. *Odyssey* 1998;4:47-52.
- Osborne BA. Apoptosis and the maintenance of homeostasis in the immune system. *Curr Opin Immunol* 1996;8:245-54.
- Saikumar P, Dong Z, Mikhailov V, Denton M, Weinberg JM, Venkatachalam MA. Apoptosis. *Am J Med* 1999;107:489-506.
- McConkey DJ. Biochemical determinants of apoptosis and necrosis. *Toxicol Lett* 1998;99:157-68.
- Zeuner A, Eramo A, Peschle C, De Maria R. Caspase activation without death. *Cell Death Differ* 1999;6:1075-80.
- Zheng TS, Hunot S, Kuida K, Flavell RA. Caspase knockouts: Matters of life and death. *Cell Death Differ* 1999;6:1043-53.
- Ashkenazi A, Dixit VM. Apoptosis control by death and decoy receptors. *Curr Opin Cell Biol* 1999;11:255-60.
- Watanabe-Fukunaga R, Brannan CI, Itoh N, et al. The cDNA structure, expression, and chromosomal assignment of the mouse Fas antigen. *J Immunol* 1992;148:1274-9.
- Nagata S, Golstein P. The Fas death factor. *Science* 1995;267:1449-55.
- Van Parijs L, Abbas AK. Role of Fas-mediated cell death in the regulation of immune responses. *Curr Opin Immunol* 1996;8:355-61.
- Ayashlođlu E, Turgay M, Düzgün N, Duman M. Expression of Fas antigen (CD95) on peripheral blood lymphocytes in Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol* 2000;18:538-40.
- Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: Integrating mammalian biology. *Cell* 2001;104:487-501.
- Pan G, O'Rourke K, Chinnaiyan AM, Gentz R, et al. The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *Science* 1997;276:111-3.
- Yoon JH, Gores GJ. Death receptor-mediated apoptosis and the liver. *J Hepatol* 2002;37:400-10.
- Jendro MC, Köhler L, Kuipers JG, Zeidler H. Microbe-induced T cell apoptosis: Subversion of the host defense system? *FEMS Microbiol Letters* 2002;207:121-6.
- Lipton SA, Bossy-Wetzel E. Dueling activities of AIF in cell death versus survival. DNA binding and redox activity. *Cell* 2002;111:147-50.
- Oltvai, ZN, Millman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 2002;74:609-19.
- Li H, Zhu H, Xu CJ, Yuan I. Cleavage of bid by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis. *Cell* 1998;94:491-501.
- Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: Arbiters of cell survival. *Science* 1998;281:1322-6.
- Lenardo M, Chan FKM, Hornung F, et al. Mature T lymphocyte apoptosis-immune regulation in a dynamic and unpredictable antigenic environment. *Ann Rev Immunol* 1999;17:221-53.
- Tschopp J, Irmeler M, Thome M. Inhibition of Fas death signals by FLIPs. *Curr Opin Immunol* 1998;10:552-8.
- Garrido C, Gurbuxani S, Ravagnan L, Kroemer G. Heat shock proteins: Endogenous modulators of apoptotic cell death. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;286:433-42.
- Laurence J, Mitra D, Steiner M, Lynch DH, Siegal FP, Staiano-Coico L. Apoptotic depletion of CD4+ T lymphocytopenia. *J Clin Invest* 1996;97:672-80.
- Mysler E, Bini P, Drapp J, et al. The apoptosis-1/Fas protein in human systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1994;93:1029-34.
- Galle PR, Hofmann WJ, Walczak H, et al. Involvement of the CD95 (APO-1/Fas) receptor and ligand in liver damage. *J Exp Med* 1995;182:1223-30.
- Tanaka J, Asaka M, Imamura M. T-cell co-signalling molecules in graft-versus-host disease. *Ann Haematol* 2000;79:283-90.
- Narula J, Haider N, Virmani R, et al. Apoptosis in myocytes in endstage heart failure. *N Engl J Med* 1996;335:1182-9.
- Fisher GH, Rosenberg FJ, Straus SE, et al. Dominant interfering Fas gene mutations impair apoptosis in a human autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Cell* 1995;81:935-46.
- Dockrell DH. Apoptotic cell death in the pathogenesis of infectious diseases. *J Infect* 2001;42:227-34.
- Simon HU. Apoptosis in inflammatory cells. *Int Arch Allergy Immunol* 1999;118:261-2.
- Facchinetti A, Tessarollo L, Mazzocchi M, Kingston R, Collavo D, Biasi G. An improved method for the detection of DNA fragmentation. *J Immunol Methods* 1991;136:125-31.
- Newton K, Strasser A. Cell death control in lymphocytes. *Adv Immunol* 2001;76:179-226.
- VanParijs L, Abbas AK. Homeostasis and self-tolerance in the immune system: Turning lymphocytes off. *Science* 1998;280:243-8.

36. Everett H, McFadden G. Apoptosis: An innate immune response to virus infection. *Trends Microbiol* 1999;7: 160-5.
37. Gao LY, Kwaik YA. The modulation of host cell apoptosis by intra-cellular bacterial pathogens. *Trends Microbiol* 2000;8:306-12.
38. Jendro MC, Deutsch T, Liese A, Köhler L, Kuipers JG, Zeidler H. *Chlamydia trachomatis* infected macrophages induce apoptosis of activated T cells by secretion of tumor-necrosis factor alpha (TNF- α). *Arthritis Rheum* 2000;43:647-9.
39. Hirsch CS, Toosi Z, Johnson JL, et al. Augmentation of apoptosis and interferon- γ production at sites of active *Mycobacterium tuberculosis* infection in human tuberculosis. *J Infect Dis* 2001;183:779-88.
40. Numes MP, Andrade RM, Lopes MF, DosReis GA. Activation induced T cell death exacerbates *Trypanosoma cruzi* replication in macrophages cocultured with CD4+ T-lymphocytes from infected hosts. *J Immunol* 1998; 160:1313-9.
41. Weinrauch Y, Zychlinsky A. The induction of apoptosis by bacterial pathogens. *Annu Rev Microbiol* 1999;53: 155-87.
42. Chen W, Frank ME, Jin W, Wahl SM. TGF-beta released by apoptotic T cells contribute to an immunosuppressive milieu. *Immunity* 2001;14:715-25.
43. Roulston A, Marcellus RC, Branton PE. Viruses and apoptosis. *Annu Rev Microbiol* 1999;3:577-628.
44. Badley AD, Pilon AA, Landay A, Lynch DH. Mechanisms of HIV- associated lymphocyte apoptosis. *Blood* 2000;96:2951-64.
45. Meyaard L, Otto SA, Jonker RR, Mijster MI, Keep RP, Miedema E. Programmed cell death of T cells in HIV-1 infection. *Science (Washington)* 1992;257:217-9.
46. Finkel TH, Tudor-Williams G, Banda NK, et al. Apoptosis occurs predominantly in bystander cells and not in productively infected cells HIV- and SIV-infected lymph nodes. *Nature Med* 1995;1:129-34.
47. Banda NK, Bernier J, Kurahara DK, et al. Crosslinking CD4 by human immunodeficiency virus gp120 primes T cells for activation-induced apoptosis. *J Exp Med* 1992;176:1099-106.
48. Bartz SR, Emerman M. Human immunodeficiency virus type I tat induces apoptosis and increases sensitivity to apoptotic signals by up-regulating FLICE/Caspase-8. *J Virol* 1999;73:1956-63.
49. Rasola A, Gramaglia D, Boccaccio C, Comoglio PM. Apoptosis enhancement by the HIV-1 nef protein. *J Immunol* 2001;166:81-8.
50. Strack PR, Frey MW, Rizzo CJ, et al. Apoptosis mediated by HIV protease is preceded by cleavage of Bcl-2. *Proc Natl Acad Sci* 1996;93:9571-6.
51. Katsikis PD, Wunderlich ES, Smith CA, Herzenberg LA. Fas antigen stimulation induces marked apoptosis of T lymphocytes in human immunodeficiency virus-infected individuals. *J Exp Med* 1995;181:2029-6.
52. Phenix BN, Angel JB, Mandy F, et al. Decreased HIV-associated T cell apoptosis by HIV protease inhibitors. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2000;16:559-67.
53. Rust C, Gores GJ. Apoptosis and liver disease. *Am J Med* 2000;108:567-74.
54. Inoue Y, Yasukawa M, Fujita S. Induction of T-cell apoptosis by human herpesvirus 6. *J Virol* 1997;71:3751-9.
55. Spender LC, Cannel EJ, Hollyoake M, et al. Control of cell cycle entry and apoptosis in B lymphocytes infected by Epstein-Barr virus. *J Virol* 1999;73:4678-88.
56. Apoptosis slide show. Understanding apoptosis cytotoxicity and cell proliferation. Roche diagnostics. http://www.roche-appliedscience.com/fst/apoptosis.htm?sis/apoptosis/scientific_information/slide001.htm.

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Ergin AYAŞLIOĞLU

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi

İnfeksiyon Hastalıkları ve

Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

KIRIKKALE

Makalenin Geliş Tarihi: 23.01.2003

Kabul Tarihi: 20.06.2003