

İnflamazomların Karaciğer Toksisitesindeki Rolü

The Role of Inflammasomes in Liver Toxicity

Fatma Betül İSPİR^{1,2}

Şaziye Sezin PALABIYIK-YÜCELİK^{1,3}

¹Atatürk University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Toxicology, 25240, Erzurum, Turkey

²Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Toxicology, 06100, Ankara, Turkey

³Clinical Research, Development and Design Application and Research Center, Atatürk University, 25240, Erzurum- Turkey

Corresponding author:

Şaziye Sezin Palabiyik-Yücelik

Ataturk University, Faculty of Pharmacy,

Department of Pharmaceutical Toxicology,

Erzurum,25240, Turkey

E-mail: spalabiyik@atauni.edu.tr

Tlf: 0 442 231 5245/5202

ABSTRACT

Inflammasomes are multi-protein complexes that are responsible for initiating inflammation against infectious microorganisms and molecules of host proteins. Eight different types of inflammasomes; NOD-like receptor-pyrin containing 1 (NLRP1), NLRP2, NLRP3, NLRP6, NLRP10, NLRP12, NLRC4 and AIM2 were defined which were formed by the combination of receptor, adapter and effector proteins. NLRP3 inflammasome is the most studied inflammasome to date which is characterized by its ability to recognize almost any hazard signal. Pathogen associated molecular pattern (PAMP) and endogenous signals of damaged or dying cells (DAMP) which are activated by NLRP3 inflammasome with activating caspase-1 to release cytokines IL-1 β and IL-18. Since the liver is the first transition organ, it is in struggle with various microbial particles. At this time, a large number of cytologic pathogens can be detected by inflammasomes. Inflammasomes are actively expressed in hepatocytes, liver sinusoidal endothelium cells, hepatic stellate cells and macrophages. Over activation of inflammasomes which are essential for liver defense against pathogens and danger signals increases the pathogenesis of various liver diseases. Within the scope of this review, the structures, diversity, activations of these inflammasomes and their roles in liver toxicity were examined.

Keywords: inflammasomme, hepatotoxicity, inflammation

ÖZET

İnflamazomlar, enfeksiyona neden olan mikroorganizmalara ve konak proteinlerinden oluşan moleküllere karşı inflamasyonun başlatılmasından sorumlu olan multiprotein komplekslerdir. Reseptör, adaptör ve efektör proteinlerin bir araya gelmesi sonucu oluşan inflamazomların pirin içeren NOD benzeri reseptör 1 (NLRP1), NLRP2, NLRP3, NLRP6, NLRP10, NLRP12, NLRC4 ve AIM2 olmak üzere 8 farklı tipi tanımlanmıştır. NLRP3 inflamazomu, neredeyse her türlü tehlike sinyalini tanıma özelliğine sahip olmasıyla öne çıkan ve günümüze kadar en fazla araştırılan inflamazomdur. Patojen ilişkili moleküler kalıplar (pathogen-associated molecular pattern; PAMP) ve hasarlı veya ölen hücrelerin endojen sinyalleri (damage/danger-associated molecular pattern; DAMP) ile aktive olan NLRP3 inflamazomu kaspaz-1 aktive ederek IL-1 β ve IL-18 sitokinlerinin salın-

masına yol açmaktadır. Karaciğer ilk geçiş organı olmasından ötürü çeşitli mikrobiyal partiküllerle mücadele halindedir. Bu sırada çok sayıda sitozolik patojen, inflamazomlar tarafından algılanabilir. İnflamazomlar, hepatositler, karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri, hepatik stellat hücreleri ve makrofajlarda aktif olarak ifade edilir. Patojenlere ve tehlike sinyallerine karşı karaciğer savunması için esas olan inflamazomların aşırı aktivasyonu ise çeşitli karaciğer hastalıklarının patojenezini artırır. Bu derleme kapsamında inflamazomların yapıları, çeşitleri, aktivasyonları ve karaciğer toksisitesindeki rolleri incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: inflamazom, hepatotoksisite, inflamasyon

1.Giriş

İlk olarak 2002 yılında söz edilen inflamazomlar, enfeksiyona neden olan mikroorganizmalara ve konak proteinlerinden oluşan moleküllere karşı inflamasyonun başlatılması ile kaspaz-1 aktivasyonunun düzenlenmesinde görevli olan doğal bağışıklık sistemi elemanlarıdır [1, 2]. İnflamazomlar, sitozolik patojenleri veya tehlike sinyallerini, nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı (nucleotide-binding and oligomerization domain, NOD) benzeri reseptörler (NOD-like receptors, NLR) aracılığıyla algılayan multiprotein komplekslerdir [3]. İnflamazomlar, eksojen patojenler (patojen ilişkili moleküler kalıp; pathogen-associated molecular pattern-PAMP) ve hasarlı veya ölen hücrelerin endojen sinyalleri (hasar ilişkili moleküler kalıp; damage/danger-associated molecular pattern, DAMP) dahil olmak üzere çeşitli inflamatuvar stimülasyonları tanımak için bir kalıp tanıma reseptörü (pattern recognition receptor, PRR) olarak görev yaparak inflamatuvar sitokinlerin üretimini düzenlerler [1].

Organizmaya ulaşan çeşitli tehlike sinyallerinin doğal immün sistem tarafından tanınması çeşitli reseptör aileleri aracılığıyla gerçekleşmektedir. Doğal immün yanıtın başlatılmasında görev alan söz konusu reseptörler, kalıp tanıma reseptörleri olarak adlandırılır; bu reseptörlerin her biri farklı bir reseptör ailesini tanımlayan 5 alt gruba ayrılır:

- i. Toll-benzeri reseptörler (Toll-like receptors, TLR)
- ii. NOD benzeri reseptörler (NLR)
- iii. C-tipi lektin reseptörleri (C-type lectin-like, CLR)
- iv. Retinoik asit-indüklenebilir gen benzeri reseptörler (retinoic acid-inducible gene-I-like receptors, RIG-like receptors, RLR)
- v. AIM-2 reseptörleri (absent in melanoma-2 benzeri reseptörler, AIM-2 like receptors, ALR).

Toll-benzeri reseptörler ve C-tipi lektin reseptörleri hücre membranında yerleşim göstererek ekstraselüler ortama ulaşan sinyallerin tanınmasında fonksiyon gösterirken, NOD-benzeri reseptörler, RIG benzeri reseptörler ve AIM-2 benzeri reseptörler hücre içi ortamda yerleşim göstermekte ve hücre içine ulaşan tehlike sinyallerinin varlığında aktive olmaktadır [4, 5]. Kalıp tanıma reseptörlerinin aktivasyonu sonucunda, patojen ile ilişkili tehlikenin ortadan kaldırılması amacıyla proinflamatuvar mediyatörlerin üretimi ve salınımları gerçekleşir; kalıp tanıma reseptörlerinin aktivasyonu, organizmayı tehlike uyarısına karşı ilk aşamada koruyan bir savunma mekanizması olmasına karşın, bu reseptörlerin kronik aktivasyonu inflamatuvar hastalıklar ve bu hastalıklarla ilişkili patofizyolojik süreçlerin başlatılmasıyla ilintilidir [4].

Nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı benzeri reseptörler ailesi, doğal immün sistemde çeşitli patojen ve tehlike uyarıları ile aktive olabilen ve böylece hem patojenle ilişkili hem de inflamasyon yanıtının başlatılmasında görev alan önemli bir kalıp tanıma reseptör ailesidir [6]. Hücre sitozolünde yerleşim gösteren NLR üç temel yapıdan meydana gelmektedir: Karboksi terminalinde lösinden zengin tekrar yapısı (leucine rich repeat domain, LRR), merkezde nükleotid bağlayan oligomerizasyon yapısı (nucleotide-binding oligomerization domain, NACHT) ve amino terminalinde NLR alt tipine göre değişkenlik gösterebilen protein-protein etkileşim kısmı [5, 6]. NACHT alanı dNTPaz aktivitesini ve oligomerizasyonu sağlarken, C-terminal LRR alanı ligand bağlanması veya aktivatör algılamasında rol oynar. N-terminal alanı ise diğer proteinlerle etkileşerek efektör fonksiyonları yerine getirir [6]. NLR ailesinin her biri farklı 4 alt tipi (NLRA, NLRB, NLRC ve NLRP) tanımlanmıştır [5, 6]. NLRP alt tipi, pirin yapısı taşıyan NLR'dir; inflamazom yapısı oluşturabilen, bu yönüyle fonksiyonları en iyi aydınlatılmış en geniş NLR ailesidir [7].

Normal koşullarda NLRP'ler hücrede inaktif durumda bulunurlar ve bir tehlike uyarısı varlığında

aktive olurlar. NLRP'lerin aktive olması sonucu yapıya apoptoz ilişkili benek benzeri protein (apoptosis-associated speck like protein, ASC) ve pro-kaspaz-1'in bağlanır ve multiprotein kompleks bir yapı oluşur ve bu kompleks yapı inflamazom adını alır [4]. İnflamazom reseptör protein (NLR protein; NLRP1, NLRP3, NLRP6, NLRC4), adaptör protein (ASC containing a CARD domain) ve efektör (kaspaz-1) proteinlerin bir araya gelmesi sonucu oluşur [3, 8]. İnflamazomlar, bulundukları PRR yapısına göre adlandırılır ve işlev görürler. İnflamazomların NLRP1, NLRP2, NLRP3, NLRP6, NLRP10, NLRP12, NLRC4 ve AIM2 olmak üzere 8 farklı tipi bulunmaktadır [9] ve tanımlanan ilk inflamazom NLRP1'dir. NLRP1 inflamazomu yapısında CARD adaptörü taşıdığı için diğer NLRP üyelerinden farklı olarak ASC proteinine gerek olmaksızın kaspaz-1 ile doğrudan etkileşime girebilir [3, 10]. ASC proteini varlığı ise kompleksin aktivitesini artırır. NLRP1 inflamazomu muramil dipeptid ve antraks etkeni olan *Bacillus anthracis* tarafından aktive edilir [11]. NLRC4/IPAF inflamazomu bakteriyel flajelin ile aktive olur [3]. NLRP6 inflamazomu bağırsak epitelinde aktif olup bağırsak florasını kontrol eder [1]. AIM2 (absent in melanoma) inflamazomu, PYHIN (pirin ve HIN alanı içeren protein) proteinleri ailesine aittir ve DNA'ya bağlanan bir HIN200 alanı ve kaspaz-1'i etkinleştirmek için ASC adaptör molekülü ile birleşen bir pirin alanı içerir. Hücre içi patojenlerden kaynaklanan bakteriyel ve viral çift zincirli DNA ile aktive olur [4, 11]. NLRP3 inflamazomu, neredeyse her türlü tehlike sinyalini tanıma özelliğine sahip olmasıyla öne çıkan ve günümüze kadar en fazla araştırılan NLRP inflamazomudur [12]. İnflamazom aktivasyonu ile gelişen immün yanıtlar, kalıp tanıma reseptörlerinin organizmadaki tehlike sinyallerini algılaması ile başlamaktadır. İnflamazom aktivasyonuna yol açan tehlike sinyalleri, PAMP ve DAMP olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Bakteriyel, viral, fungal veya protozoal enfeksiyonlara bağlı olarak oluşan muramil dipeptid, bakteriyel flagellin, bakteriyel lipopolisakarid, letal toksin, bakteriyel RNA, DNA, viral RNA, β -glukan, zimosan ve hemozoin inflamazom aktivasyonuna yol açtığı bilinen tipik PAMP'lar arasında sayılabilir. DAMP'lar ise endojen moleküller olabileceği gibi, ekzojen moleküller de olabilmektedir; endojen DAMP'lara ATP, ürik asit kristalleri, kolesterol kristalleri, HMGB1, β -amiloid, hiyaluronan ve glukoz örnek verilirken, ekzojen DAMP'lara UV radyasyonu, asbest, silika ve alüminyum sülfat örnek olarak verilebilir [6, 13, 14].

Hücreye ulaşan tehlike sinyalleri varlığında NLRP3 inflamazomunun aktive edilebilmesi iki aşamalı sinyal iletimi ile sağlanmaktadır. İlk olarak PAMP/DAMP ligandlarının hücre yüzeyinde bulunan TLR tarafından algılanması gerekmektedir. Bunun sonucunda Nuclear Factor kappa B (NF- κ B) transkripsiyon faktörü aktive edilerek, NLRP3, prointerlökin 1 beta (pro-IL-1 β) ve pro-IL-18 öncül sitokinlerinin transkripsiyonları gerçekleşmektedir. İnaktif durumdaki NLRP3 aktive olarak oligomerize olur, ASC ve pro-kaspaz-1 ile bağlanarak inflamazom oluşumu meydana gelir. Bu süreç için hücre sitozolüne ikinci bir sinyalin ulaşması gerekmektedir. İkinci sinyal eş zamanlı üç moleküler mekanizmayı içerir. İlk olarak; ATP, hücre membranında yerleşim gösteren katyon kanalı ile kenetli iyonotropik P2X7 reseptörlerinin aktive olmasını sağlar. Bunun sonucunda hücreden K⁺ iyonu çıkışı meydana gelir ve düşük intraselüler K⁺ düzeyleri NLRP3 aktivasyonuna neden olur. Düşük hücre içi K⁺ düzeylerinin inflamazom aktivasyonuna ne şekilde yol açtığı ise bilinmemektedir. İnflamazom aktivasyonunun gerçekleştiği bu ikinci aşamada proteolitik özellik gösteren kaspaz-1 aktive olur ve pro-IL-1 β ve pro-IL-18'den aktif ve olgun formları olan IL-1 β ve IL-18 meydana gelir. Bu mekanizmaların yanında fagosite edilen kristal ya da partikül yapıda çeşitli DAMP'ların (silika, ürik asit kristalleri gibi) lizozomal parçalanmaya neden olarak inflamazom aktivasyonuna yol açtığı bilinmektedir. Ayrıca mitokondri fonksiyon bozukluğu sonucu sitozole salınan reaktif oksijen türlerinin (ROS) etkisi altında NLRP3 inflamazom aktivasyonu gerçekleşmektedir [1, 3].

2. Karaciğer Hasarı ve İnflamazomların

Rolü

Karaciğer portal dolaşım yoluyla bağırsaklardan absorpsiyonu takiben gelen çeşitli mikrobiyal partiküllerle sürekli mücadele eden bir "ilk geçiş" organıdır. Bu sırada çok sayıda sitozolik patojen, inflamazomlar tarafından algılanabilir. İnflamazomlar, hepatositler, karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri, hepatik stellata hücreleri ve makrofajlarda aktif olarak ifade edilir [8].

İnflamazom tarafından aktive edilen IL-1 β 'in karaciğer inflamasyonunda rol aldığı gösterilmiştir [1]. İnflamazomlar, patojenlere ve tehlike sinyallerine karşı karaciğer savunması için esastır ancak inflamazomların aşırı aktivasyonu çeşitli karaciğer has-

talıklarının patojenezinde rol oynar [8]. Bu nedenle karaciğerde inflamazomların rollerinin kesin bir şekilde anlaşılması gerekmektedir. İnflamazomlar; asetaminofen (APAP) gibi ilaçlar, iskemi/reperfüzyon veya endotoksinlerin neden olduğu akut karaciğer hasarının patojenezinde ve ayrıca alkolik ve non-alkolik steatohepatitlerde dahil olmak üzere kronik karaciğer hastalıklarında rol oynamaktadır [3].

2.1. İlaçlarla İndüklenen Karaciğer Hasarında İnflamazomların Rolü

Asetaminofen yaygın olarak kullanılan göreceli olarak güvenli bir analjezik ve antipiretik bir ilaçtır. Ancak, aşırı dozda alındığında hepatotoksisiteye neden olmaktadır. APAP, biyotransformasyon sonucu oluşan toksik metaboliti N-asetil p-benzokinonim (NAP-QI) nedeniyle hepatositlere doğrudan sitotoksiktir [15]. APAP kaynaklı hepatik hasarda, DAMP'lerin hepatosit ve sinüzoidal endotelial hücrelerden salınması, TLR ve NLR/inflamazomlar dahil olmak üzere PRR yoluyla inflamasyonu tetikler [3]. IL-1 β ve inflamazomların APAP kaynaklı karaciğer hasarının patojenezindeki rolü tartışmalıdır [3]. James ve ark. larının çocuklar ve ergenlerde yaptığı bir çalışmada, aşırı doz APAP ve artmış serum IL-1 β düzeyleri arasında bir ilişkili bulunmazken [16], hayvanlarla yapılan diğer çalışmalarda serum IL-1 β ve karaciğer IL-1 β mRNA ve protein düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir [17-19]. Yapılan birkaç çalışma, APAP kaynaklı karaciğer hasarında inflamazom bağımlı sitokin olan IL-1 β ve IL-18'in rollerini incelemiştir [3]. Chen ve ark.ları IL-1R eksikliğinin, APAP kaynaklı karaciğer hasarında ve nötrofil alımında azalmaya yol açtığını gözlemlemişlerdir. IL-1 α , IL-1 β ve IL-1R'ye karşı antikörlerin bloke edilmesi de APAP kaynaklı karaciğer yetmezliğinin azalmasına neden olmuş, ancak koruma derecesi IL-1R eksikliği olan farelerde olduğundan daha az gözlenmiştir [20]. Imaeda ve ark.larında yaptıkları bir çalışmada, IL-1 β nötrleştirici antikörlerin uygulanmasının ve IL-18 nakavt (knock out; KO) farelerinin kullanımının ölümcül bir APAP dozu uygulaması sonrası sağkalımı artırdığını gözlemlemişlerdir. Hasar görmüş hücrelerden gelen apoptotik DNA'nın TLR-9 yoluyla pro-IL-1 β mRNA üretimine yol açtığını ve diğer DAMP'lerle birlikte inflamazom aktivasyonuna neden olduğunu öne sürmüşlerdir. APAP kaynaklı karaciğer hasarının, NLRP3 inflamazomunun bulunmadığı, ancak NLRC4'ün bulunduğu farelerde azal-

dığını ve böylece APAP kaynaklı karaciğer hasarında NLRP3 inflamazomunun bir rolü olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca Imaeda ve ark.larının yaptıkları çalışmada, aspirin ile inflamazom aktivasyonunun inhibisyonu sonucunda, APAP kaynaklı hepatotoksisiteden korunma ile sonuçlandığını gözlemlemişlerdir [18]. Buna karşılık, Williams ve ark.ları, IL-1R KO farelerinin veya inflamazom bileşenlere sahip olmayan farelerin (kaspaz-1, ASC, NLRP3), hiçbir koruma göstermediğini ve bir pan-kaspaz inhibitörünün uygulanmasının, IL-1 β artışını bloke ederken APAP-karaciğer hasarını önleyemediğini bildirmişlerdir [21].

Jianjun ve ark. bir rekombinant insan IL-1R antagonistinin (RhIL-1a) uygulanmasının APAP ile indüklenen karaciğer hasarına karşı koruyucu olabileceğini gözlemlemişlerdir. RhIL-1a'nın APAP ile indüklenen karaciğer hasarında farelerin hayatta kalma oranını önemli ölçüde artırdığını, ALT ve AST aktivitelerini inhibe ettiğini, hepatositlerin nekrozunu ve apoptozunu azalttığını göstermişlerdir [22]. Ishibe ve ark. IL-1Ra KO farelerde çalışma yapmış ve yüksek doz APAP uygulaması sonrası azalmış karaciğer hasarını göstermişlerdir. Bu durumu, IL-1Ra KO farelerinin, vahşi tip (wild type) farelere göre daha az toksik metabolit (NAPQI) ürettiği gözlemlenmiştir [19].

Bu çelişkili gözlemler, inflamasyondan hücre ölümüne kadar uzanan inflamazom ve IL-1 β sinyalleşmesinin karmaşık rolüyle ilgili olabilir. Diğer bir sebep APAP hasarına ilişkin müdahalelerin zamanlaması ve hayvan modelleri arasındaki yaş ve cinsiyet farklılıklarıdır [3, 23]. Blazka ve ark. yaptıkları çalışmada proinflamatuvar sitokinlerin hepatotoksik bir APAP dozuna yanıt olarak üretilip üretilmediğini ve eğer öyleyse, gözlemlenen patolojik yanıtta oynadıkları rolü incelemiştir. Yaptıkları çalışma sonucunda TNF- α ve IL-1 α 'nın APAP zehirlenmesine yanıt olarak salındığını ve APAP kaynaklı hepatotoksisitenin bazı patolojik belirtilerinden sorumlu olduğu sonucuna varmışlardır. Bu nedenle IL-1 β 'nin dışında IL-1 α 'nın rolü de APAP toksisitesinde de göz önünde bulundurulmalıdır [17].

2.2. İskemi ve Reperfüzyon Kaynaklı Karaciğer Hasarında İnflamazomların Rolü

İskemi ve reperfüzyon (I/R); hepatosit ölümü, DAMP'lerin salınması, inflamatuvar hücre infiltras-

yonu, Kupffer hücre aktivasyonu, ROS üretimi ve karaciğer sinüzoidal endotel hücrelerinin bozulması ile karakterizedir. Bu olaylar ise inflamazom aktivasyonuna yol açabilmektedir [3].

Colletti ve ark. I/R kaynaklı karaciğer hasarının TNF- α üretimini arttırdığını ve bu TNF- α 'nın hepatic hasar ile yakından ilişkili olduğunu bildirmişlerdir [24]. Shito ve ark. IL-1'in I/R kaynaklı karaciğer hasarında rolünü incelemek için IL-1Ra ile yapılan ön tedavinin IL-1, TNF, karaciğerde ki histolojik bulgular ve sağkalım üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Veriler, I/R kaynaklı karaciğer hasarında IL-1 ve TNF üretiminin arttığını ve IL-1Ra ile ön tedavinin, karaciğeri iskemik hasardan koruduğunu ve bu tedavinin I/Rhasarında IL-1 için önemli bir rolü olduğunu göstermiştir [25]. Zhu ve ark. yaptıkları bir çalışmada NLRP3'ü baskılamanın fare karaciğeri I/R hasarında koruyucu bir etkisinin olup olmadığını araştırmışlardır. NLRP3'ün baskılanması ile I/R ile indüklenen hepatoselüler hasarın ve kaspaz-1 ve NF- κ B aktivitesinin inhibisyonu yoluyla IL-1 β , IL-18, HMGB1, IL-6 ve TNF- α salınımının azaldığını gözlemlemişlerdir [26]. Shimizu ve ark. yaptıkları bir çalışmada I/R kaynaklı karaciğer hasarında, N-asetilsisteinin varlığında kaspaz-1 aktivasyonunda azalma tespit etmişlerdir. Hipoksi ve re-oksjenasyon fazı sırasında kaspaz-1 aktivasyonu gözlenmiş ve spesifik bir kaspaz-1 inhibitörü, I/R kaynaklı hücre ölümünü önlemiştir [27]. Menzel ve ark. kaspaz-1'in bir travma modelinde hepatoprotektif olduğunu ileri sürmüştür; bununla birlikte NLRP3'den bağımsız kaspaz-1 aktivasyonunun hemorajik şokta ve travmada I/R hasarına sebep olduğunu gözlemlemişlerdir [28].

2.3. Alkolik Karaciğer Hastalığında

İnflamazomların Rolü

Alkolik karaciğer hastalığı (ALD) dünyadaki en yaygın karaciğer hastalıklarından biridir. Yağlı karaciğerden ağır siroz, karaciğer yetmezliği ve hepatoselüler karsinomaya (HCC) ilerleyebilen ALD, aşırı etil alkol (etanol) tüketimi ile tetiklenir [8]. IL-1 β ve TNF- α dahil artan proinflamatuvar sitokin seviyeleri ALD'den etkilenen hastalarla ilişkilidir. Yapılan çalışmalar, karaciğer hastalığı olan alkoliklerde ve alkolle indüklenmiş karaciğer hasarı oluşturulan hayvan modellerinde, IL-1 β serum seviyelerinin arttığını göstermiştir [29, 30]. TNF- α , alkol maruziyetine tepki olarak eksprese edilir ve üretimi karaciğer hasarı

ile eşzamanlı gerçekleşir. Ayrıca, hayvan modellerinde ALD'nin ekspresyonunun azalması karaciğer hasarını azaltır [31]. Hsiang ve ark. alkolün metaboliti olan asetaldehit ile muamele edilen HepG2 hepatositlerinden IL-1 β ve TNF- α salgılandığını göstermiştir [32]. Kronik olarak alkole maruz bırakılan bir fare modelinde, serum ve karaciğerde IL-1 β düzeylerinde artış olduğu, artmış kaspaz-1 aktivasyonu ve karaciğerde inflamazom bileşenleri NLRP3, ASC ve pro-kaspaz-1'in upregülasyonu gözlenmiştir. İnflamazom aktivasyonunun, ALD'de karaciğer patofizyolojisinin bir bileşeni olduğunu düşündürmüştür [33]. Petrasek ve ark. inflamazom ve IL-1'in, alkol kaynaklı karaciğer hasarı ve steatoz patojenezini tetiklediğini ve IL-1Ra ile yapılan tedavinin, ALD'nin gelişimini azalttığını yaptıkları çalışma sonucunda tespit etmişlerdir. IL-1Ra ile müdahale edilmiş farelerin yanı sıra, kaspaz-1 ve ASC'nin nakavt edildiği fare modelleri kullanmışlardır. IL-1'in ALD'de aktive edilip edilmediğini araştırmak için, WT farelerine etanol veya izokalorik kontrol (çift besleme) diyeti farelere verilmiştir. Histopatolojik analiz sonucunda, etanol verilen farelerde ALD'ye işaret eden steatoz (oil-red) ve karaciğer hasarına neden olduğu gözlenmiştir. Alkole bağlı karaciğer hasarında kaspaz-1 aktivasyonunun önemini anlamak için, WT ve Kaspaz-1-KO farelerine etanol ve kontrol diyeti uygulanmıştır. WT farelerinin aksine Kaspaz-1-KO fareleri, histolojik analizde ALD'nin morfolojik özelliklerinde belirgin bir iyileşme göstermiştir ve azalmış serum alanin aminotransferaz (ALT) ile karaciğer hasarının önemli derecede azaldığını gözlenmiştir. Alkol verilen farelerin karaciğerlerinde ASC ekspresyonunun arttığı tespit edildiği için, ASC-KO olan fareler kullanılarak ALD'deki rolü araştırılmıştır. WT farelerinin aksine, IL-1R1-KO fareleri, karaciğer hasarı ve steatoz patojenezinde belirgin bir iyileşme göstermiştir. IL-1R1'in, alkolün yol açtığı karaciğer hasarı ve steatoz patojenezinde kritik bir rol oynadığı gösterilmiştir. NLRP3 inflamazomunun ALD ile ilişkisi, karaciğer inflamasyonu ve steatoz, NLRP3-/- veya kaspaz-1-/- farelerinde etkileyici bir şekilde hafifletilirken, alkol verilen farelerde NLRP3, kaspaz-1 ve IL-1 β 'in güçlü ekspresyonu ile kanıtlanmıştır [34]. Voican ve ark. etanol verilen farelerin karaciğerlerinde artan NLRP3 inflamazom bileşenleri, ASC ve bölünmüş kaspaz-1 seviyelerinin ve IL-1 β 'nin up-regülasyonunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca inflamazom bileşenlerinin (IL-1 β , IL-18, kaspaz-1) karaciğer ekspresyonunda artış tespit edilmiş ve ALD hastalarında karaciğer hasarı ile ilişkili bulun-

muştur [35]. DeSantis ve ark. yaptıkları çalışmada, NLRP3^{-/-} farelerinin daha yüksek ALT seviyeleri, IL-18 ekspresyonunun ve IL-1 β ekspresyonunun azalması ile daha şiddetli hepatik hasar sergilediğini, bu da NLRP3 inflamazomunun etanol kaynaklı hepatik hasar sırasında koruyucu olduğunu bildirmişlerdir[36].

2.4. Viral Hepatit ve İnflamazomlar

Hepatit virüsler, hepatositleri enfekte eder. Bunların yaklaşık % 90'ı hepatit B virüsü (HBV) ve hepatit C virüsünün (HCV) neden olduğu kronik enfeksiyon sonucu yüksek mortalite ile karaciğer iltihaplanmasına neden olur. Çeşitli çalışmalar NLRP3 inflamazomunun viral hepatit patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir [8]. Mollyvdas ve ark. yaptıkları bir çalışmada, kronik hepatit B ve kronik hepatit C tanısı yeni konmuş hastalardan veya remisyonunda kronik hepatit B olan hastalardan karaciğer biyopsisi yapmışlardır. İnflamasyon ve fibroz derecesini belirlemek için histolojik inceleme ve IL-1 β , kaspaz-1, NLRP3, ASC seviyeleri PCR çalışması ile araştırılmıştır. NLRP3'ün hepatik ekspresyonunun, kaspaz-1 ve IL-1 β , kronik HBV'li hastalarda, kronik remisyondakilere göre anlamlı derecede yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir [37]. HBV hastalarında IL-1 β düzeyleri ile karaciğer inflamasyonunun şiddeti arasında güçlü bir ilişki olduğu gösterilmiştir, bu da NLRP3 aracılı IL-1 β 'in, HBV ile indüklenen viral hepatitin potansiyel gücü olduğu anlamına gelmektedir[8].

HCV enfeksiyonu sırasında, NLRP3 inflamazomu faydalı veya zararlı bir rol oynayabilir. Negash ve ark. yaptıkları çalışmada, kronik HCV enfeksiyonu olan hastalarda sağlıklı kontrollere kıyasla yüksek serum IL-1 β seviyeleri olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca Kupffer hücrelerinin kronik HCV hastalarında, HCV karaciğerden IL-1 β , TNF α üretimini indüklediği için IL-1 β 'nin birincil hücre kaynağı olduğunu tanımlamışlardır [38]. Bu çalışmalar, NLRP3 inflamazomunun, HBV ve HCV enfeksiyonlarında araştırma gerektiren farklı fonksiyonları olduğunu göstermektedir.

3. Sonuç

Sonuç olarak; büyük bir sitoplazmik kompleks olan inflamazomlar patojenlere ve tehlike sinyallerine karşı karaciğer savunması için esastır; ancak, infla-

mazomların aşırı aktivasyonu ise çeşitli karaciğer hastalıklarının patojenezini artırmaktadır. Bu nedenle, inflamazomların iki yönlü fonksiyonlarının altında yatan mekanizmaların daha iyi bir şekilde aydınlatılması gerekmektedir ve günümüzde bu konuda sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır. Temel görevi kaspaz aktivasyonu ile bağışıklık sistemi olan bu multiprotein kompleks yapıların etki mekanizmaları ve immün sistem ve inflamatuvar yanıt ile ilişkileri konularında yapılacak her araştırma, inflamazomlar ve hepatotoksisite dahil toksik etki mekanizmaları konularında yol gösterici olacaktır.

Kaynakça

1. Wang J, Dong R, Zheng S: Roles of the inflammasome in the gut-liver axis (Review). *Molecular Medicine Reports* 2019, 19(1): 3-14.
2. Sharma D, Kanneganti TD: The cell biology of inflammasomes: Mechanisms of inflammasome activation and regulation. *Journal of Cell Biology* 2016, 213(6): 617-29.
3. Szabo G, Csak T: Inflammasomes in liver diseases. *Journal of Hepatology* 2012, 57(3): 642-54.
4. Kigerl KA, de Rivero Vaccari JP, Dietrich WD, Popovich PG, Keane RW: Pattern recognition receptors and central nervous system repair. *Experimental Neurology* 2014, 258:5-16.
5. Amin J, Boche D, Rakic S: What do we know about the inflammasome in humans? *Brain Pathology* 2017, 27(2): 192-204.
6. Kim YK, Shin JS, Nahm MH: NOD-Like Receptors in Infection, Immunity, and Diseases. *Yonsei Medical Journal* 2016, 57(1): 5-14.
7. Di Virgilio F: The therapeutic potential of modifying inflammasomes and NOD-like receptors. *Pharmacological Reviews* 2013, 65(3): 872-905.
8. Luan J, Ju D: Inflammasome: A Double-Edged Sword in Liver Diseases. *Frontiers in Immunology* 2018, 9:2201.
9. Xiao J, Tipoe GL: Inflammasomes in non-alcoholic fatty liver disease. *Frontiers in Bioscience (Landmark Ed)* 2016, 21:683-95.
10. Ratsimandresy RA, Dorfleutner A, Stehlik C: An Update on PYRIN Domain-Containing Pattern Recognition Receptors: From Immunity to Pathology. *Frontiers in Immunology* 2013, 4:440.
11. Khare S, Luc N, Dorfleutner A, Stehlik C: Inflammasomes and their activation. *Critical Reviews in Immunology* 2010, 30(5): 463-87.
12. Schroder K, Tschopp J: The inflammasomes. *Cell* 2010, 140(6): 821-32.

13. de Rivero Vaccari JP, Dietrich WD, Keane RW: Activation and regulation of cellular inflammasomes: gaps in our knowledge for central nervous system injury. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 2014, 34(3): 369-75.
14. Davis BK, Wen H, Ting JP: The inflammasome NLRs in immunity, inflammation, and associated diseases. *Annual Review of Immunology* 2011, 29:707-35.
15. Beger RD, Bhattacharyya S, Yang X, Gill PS, Schnackenberg LK, Sun J, James LP: Translational biomarkers of acetaminophen-induced acute liver injury. *Archives of Toxicology* 2015, 89(9): 1497-522.
16. James LP, Farrar HC, Darville TL, Sullivan JE, Givens TG, Kearns GL, Wasserman GS, Simpson PM, Hinson JA: Elevation of serum interleukin 8 levels in acetaminophen overdose in children and adolescents. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 2001, 70(3): 280-6.
17. Blazka ME, Wilmer JL, Holladay SD, Wilson RE, Luster MI: Role of proinflammatory cytokines in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1995, 133(1): 43-52.
18. Imaeda AB, Watanabe A, Sohail MA, Mahmood S, Mohamadnejad M, Sutterwala FS, Flavell RA, Mehal WZ: Acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice is dependent on Tlr9 and the Nalp3 inflammasome. *Journal of Clinical Investigation* 2009, 119(2): 305-14.
19. Ishibe T, Kimura A, Ishida Y, Takayasu T, Hayashi T, Tsuneyama K, Matsushima K, Sakata I, Mukaida N, Kondo T: Reduced acetaminophen-induced liver injury in mice by genetic disruption of IL-1 receptor antagonist. *Laboratory Investigation* 2009, 89(1): 68-79.
20. Chen CJ, Kono H, Golenbock D, Reed G, Akira S, Rock KL: Identification of a key pathway required for the sterile inflammatory response triggered by dying cells. *Nature Medicine* 2007, 13(7): 851-6.
21. Williams CD, Antoine DJ, Shaw PJ, Benson C, Farhood A, Williams DP, Kanneganti TD, Park BK, Jaeschke H: Role of the Nalp3 inflammasome in acetaminophen-induced sterile inflammation and liver injury. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2011, 252(3): 289-97.
22. Hu J, Yan D, Gao J, Xu C, Yuan Y, Zhu R, Xiang D, Weng S, Han W, Zang G, Yu Y: rhIL-1Ra reduces hepatocellular apoptosis in mice with acetaminophen-induced acute liver failure. *Laboratory Investigation* 2010, 90(12): 1737-46.
23. Wu X, Dong L, Lin X, Li J: Relevance of the NLRP3 Inflammasome in the Pathogenesis of Chronic Liver Disease. *Frontiers in Immunology* 2017, 8:1728.
24. Colletti LM, Remick DG, Burtch GD, Kunkel SL, Strieter RM, Campbell DA, Jr.: Role of tumor necrosis factor-alpha in the pathophysiologic alterations after hepatic ischemia/reperfusion injury in the rat. *Journal of Clinical Investigation* 1990, 85(6): 1936-43.
25. Shito M, Wakabayashi G, Ueda M, Shimazu M, Shirasugi N, Endo M, Mukai M, Kitajima M: Interleukin 1 receptor blockade reduces tumor necrosis factor production, tissue injury, and mortality after hepatic ischemia-reperfusion in the rat. *Transplantation* 1997, 63(1): 143-8.
26. Zhu P, Duan L, Chen J, Xiong A, Xu Q, Zhang H, Zheng F, Tan Z, Gong F, Fang M: Gene silencing of NALP3 protects against liver ischemia-reperfusion injury in mice. *Human Gene Therapy* 2011, 22(7): 853-64.
27. Shimizu S, Eguchi Y, Kamiike W, Akao Y, Kosaka H, Hasegawa J, Matsuda H, Tsujimoto Y: Involvement of ICE family proteases in apoptosis induced by reoxygenation of hypoxic hepatocytes. *American Journal of Physiology* 1996, 271(6 Pt 1): G949-58.
28. Menzel CL, Sun Q, Loughran PA, Pape HC, Billiar TR, Scott MJ: Caspase-1 is hepatoprotective during trauma and hemorrhagic shock by reducing liver injury and inflammation. *Molecular Medicine* 2011, 17(9-10): 1031-8.
29. Valles SL, Blanco AM, Azorin I, Guasch R, Pascual M, Gomez-Lechon MJ, Renau-Piqueras J, Guerri C: Chronic ethanol consumption enhances interleukin-1-mediated signal transduction in rat liver and in cultured hepatocytes. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 2003, 27(12): 1979-86.
30. McClain CJ, Cohen DA, Dinarello CA, Cannon JG, Shedlofsky SI, Kaplan AM: Serum interleukin-1 (IL-1) activity in alcoholic hepatitis. *Life Sciences* 1986, 39(16): 1479-85.
31. Nagy LE: The Role of Innate Immunity in Alcoholic Liver Disease. *Alcohol Research: Current Reviews* 2015, 37(2): 237-50.
32. Hsiang CY, Wu SL, Cheng SE, Ho TY: Acetaldehyde-induced interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha production is inhibited by berberine through nuclear factor-kappaB signaling pathway in HepG2 cells. *Journal of Biomedical Science* 2005, 12(5): 791-801.
33. Szabo G, Petrasek J: Inflammasome activation and function in liver disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 2015, 12(7): 387-400.
34. Petrasek J, Bala S, Csak T, Lippai D, Kodys K, Menashy V, Barribeau M, Min SY, Kurt-Jones EA, Szabo G: IL-1 receptor antagonist ameliorates inflammasome-dependent alcoholic steatohepatitis in mice. *Journal of Clinical Investigation* 2012, 122(10): 3476-89.
35. Voican CS, Njike-Nakseu M, Boujedidi H, Barri-Ova N, Bouchet-Delbos L, Agostini H, Maitre S, Prevot S, Cassard-Dolciere AM, Naveau S, Perlemuter G: Alcohol withdrawal alle-

- viates adipose tissue inflammation in patients with alcoholic liver disease. *Liver International* 2015, 35(3): 967-78.
36. DeSantis DA, Ko CW, Liu Y, Liu X, Hise AG, Nunez G, Croniger CM: Alcohol-induced liver injury is modulated by Nlrp3 and Nlrc4 inflammasomes in mice. *Mediators of Inflammation* 2013, 2013751374.
37. Molyvdas A, Georgopoulou U, Lazaridis N, Hytioglou P, Dimitriadis A, Foka P, Vassiliadis T, Loli G, Phillipidis A, Zebe-kakis P, Germenis AE, Speletas M, Germanidis G: The role of the NLRP3 inflammasome and the activation of IL-1beta in the pathogenesis of chronic viral hepatic inflammation. *Cytokine* 2018, 110389-396.
38. Negash AA, Ramos HJ, Crochet N, Lau DT, Doehle B, Papic N, Delker DA, Jo J, Bertolotti A, Hagedorn CH, Gale M, Jr.: IL-1beta production through the NLRP3 inflammasome by hepatic macrophages links hepatitis C virus infection with liver inflammation and disease. *PLoS Pathogens* 2013, 9(4): e1003330.