

Apoptosis : programlı hücre ölümü veya indüklenmiş intihar

Dr. İbrahim Halil ÖZEROL*

Apoptosis, intrinsik olarak programlanmış "hücre intihar girişi" yani bir çeşit programlı hücre ölümüdür. Morfolojik olarak nükleer kromatinin koyulaşması, hücre yüzeyinde kabarcıkların oluşması ve DNA'da kopmalar ile karakterizedir. Memelilerde T ve B lenfositlerinde ve timositlerde apoptosis görülmektedir. Özellikle timoma'da olmak üzere tümör radyoterapisi sırasında da apoptosis görülür. İyonizan radyasyon da periferik lenfositlerde apoptosisı indükler. p53 tümör süprese eden gen ve bcl-2 onkogen'i hücrede görülen apoptosis ile yakından ilgili bulunmuştur.

Programlı hücre ölümü kanser, AIDS, otoimmün hastalıklar ve santral sinir sisteminin dejeneratif hastalıklarında rol oynayabilir. Apoptosis, bu hastalıkların tedavisi ve önlenmesi için yeni farmakolojik imkanlar sunmaktadır. [Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi 2(2):206-220,1995]

Anahtar Kelimeler : Apoptosis, programlı hücre ölümü, indüklenmiş intihar, kanser, otoimmün hastalık, AIDS

Apoptosis : programmed cell death or induced suicide

Apoptosis is a kind of programmed cell death, that is, intrinsically programmed "cell suicide process". Apoptosis is characterized morphologically by condensation of chromatin at the nucleary boundary, blebbing at the cell surface, and breakdown of DNA. Mammalian T and B lymphocytes, thymocytes, show a typical apoptosis immediately. Apoptosis appears also during radiotherapy of tumor, especially of thymoma. Ionizing radiation also induces apoptosis in peripheral mature lymphocytes. Tumor suppressor gene such as p53 and oncogene such as bcl-2 are found to be closely related to apoptotic processes in a cell.

Programmed cell death may play a part in the aetiology of cancer, AIDS, autoimmune diseases, and degenerative diseases of the central nervous system. The pharmacological manipulation of apoptosis offers new possibilities for the prevention and treatment of these illnesses. [Journal of Turgut Özal Medical Center 2(2):206-220,1995]

Key Words : Apoptosis, programmed cell death, induced suicide, cancer, autoimmune disease, AIDS

Çok hücreli organizmalarda hücre ölümü önemli bir fizyolojik olaydır. Fizyolojik hücre ölümü yıllardır bilinmesine rağmen konu üzerine ilk defa 1972'de Kerr ve ark.larının ölen hücrelerin özelliklerinde meydana gelen ultrastrüktürel değişimleri ve bu prosesi tanımlamak için apoptosis terimini kullanmaları üzerine özel bir önem kazanmıştır¹. Özellikle son yıllarda yapılan araştırmalarda immünoloji, gelişim biyolojisi ve onkoloji dallarını ilgilendiren önemli bilgiler elde edilmiştir. Normal veya uygun fizyolojik fonksiyonlarını yapamaz hale gelen hücreler organizmaya zarar vermeden öldürülmelidir. Hem gelişme hem de homeostasis sırasında hücre ölümü ile artık gerekmeyen, anormal fonksiyonlu hücreler

veya sadece tek cinsiyet için gereken hücreler öldürülür. Hücre ölümü genellikle kaotik bir proses olarak kabul edilmesine rağmen, çok hücreli organizmalarda anabolik ve katabolik reaksiyonlar arasındaki denge ile hücre oluşumu ve ölümü arasındaki oran eşitlenerek organizma şekli sabit kalmaktadır. Organın fonksiyonunu bozan veya kansere neden olan anormal hücreler ile yaşlanan veya hücre yapısı tahrip olan hücrelerin ayrılması gerekir. Hücre ölümü inhibe edilirse immün sistemde self-reaktif B ve T lenfositleri artarak otoimmün hastalıkların görülmesine neden olur². Daha önemlisi mutasyona uğrayan hücreler öldürülmezse malformasyonlar veya kanserler gelişir. İstenmeyen hücreler programlı hücre ölümü ile elimine

* : İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı - Malatya

edilmektedir. AIDS'teki T hücre ölümleri fizyolojik hücre ölümünü hatırlatmaktadır. Pankreas adacık hücrelerinde amiloid depolanmasının hücre disfonksiyonuna ve ölümüne neden olduğu bildirilmiştir³. Transplantların rejeksiyonundan kısmen de olsa fizyolojik hücre ölümü mekanizmaları sorumludur⁴. Hücre ölümünün inhibe edilmesi kadar kontrolsüz hücre ölümü de tehlikelidir. Örn. Alzheimer ve Parkinson gibi dejeneratif nörolojik hastalıklarda özel nöron subsetlerinde prematür ölüm olayları görülmektedir⁵⁻⁷.

Apoptosis; hedef doku üzerinde hücre ölümünü engelleyen trofik hormonların ve inhibitörlerin etkisinin kalkması ile veya stimülatörlerin tetiklemesi ile ortaya çıkar⁵. Apoptosis sırasında hücre büzülür, nükleus kenarlarında kromatin yoğunlaşır, nükleus zarf dağılır ve hücre, membrana bağlı apoptotik fragmanlara ayrılır. DNA, tipik olarak 180 bp (internükleosomal mesafe birimi)'lik küçük fragmanlara ayrılır. Yüzeyleki apoptotik cisimler sinyaller gönderir ve diğer hücreler tarafından fagositozu başlatır. İnsekt ve amfibiaların metamorfozu sırasında hücre ölümü görülmektedir. Programlı hücre ölümü vertebralılarda embriyogenez sırasında ve normal doku turnover'ı süresince devam eder. Gelişimin daha başlangıcında hücre ölümü olayları başlar. Blastokist'in implante olduğu yerde endometrium hücreleri, sinir sisteminin gelişmesi sırasında normal bağlantı yapamayan nöronlar ölmektedir^{5,6}. Erişkinlerdeki somatik hücrelerde; keratinositlerin oluşumu, kastrasyondan sonra prostatın atrofiye olması, süten kesilmeden sonra süt bezlerinin gerilemesi ve olgun nötrofillerin ölmesi olayları apoptosis sonucudur. Bağırsak, eklem tomurcukları, kartilaj ve kemiklerin gelişimi sırasında da hücre ölümü görülmektedir.

İmmün sistemde apoptosis özellikle önemlidir. İmmatür timositler üzerinde glukokortikoidlerin sitotoksik etkisi ve tümör nekroz faktörü (TNF)'nün malign hücrelere etkisi apoptosis özelliği ile açıklanmaktadır⁸. İmmün sistemdeki antijen reseptörleri hatalı olan ve bu nedenle yabancı antijeni tanıyamayan veya kendi antijenlerine saldıran oto-reaktif B ve T lenfositleri öldürülerek uzaklaştırılmaktadır⁹. Viral infeksiyonlardan korunmak amacıyla infekte hücreler öldürülmektedir. Viral infeksiyonlarda, konak hücreleri yeni virüs partiküllerini oluşturmaktadır. Konak vücudunda virüs çoğalmasını durdurmak için en etkili yol sitotoksik T lenfositlerinin virüs antijenlerini tanıması ve virüsle infekte hücreleri öldürmesidir.

İmmün sistemde, bir lenfosit klonu antijenle uyarılınca ya antijene spesifik olarak çoğalmaya (pozitif seleksiyon) ya da belirli şartlar altında antijen(ler)le veya diğer stimulan(lar)la karşılaşarak aktive olunca selektif olarak ölmeye (negatif seleksiyon) başlamaktadır. Lenfositlerin negatif seleksiyona uğraması sık görülmekte olup immün sistemin kendinden olma yabancı olandan ayırdedebilme kabiliyeti için gereklidir. Normal konak dokularında bulunan antijenleri tanıyan T ve B lenfositleri kemik iliği veya timüsü terketmeden önce selektif olarak öldürülmektedir². Böylece, otoreaktif potansiyeli olan hücrelerin konağa zarar vermesi önlenmektedir. Timositler içinde ölüm olayları, gelişmekte olan timositlerin en az %99'unda meydana gelmektedir. Bu nedenle, immün sistemin klonal kompozisyonu pozitif klonal seleksiyonla ve aynı zamanda potansiyel olarak zararlı klonların yok edilmesi ile meydana gelmektedir^{10,11}.

Buna benzer fizyolojik veya programlı hücre ölümünden sorumlu mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Fakat sayısız mekanizmaların olması mümkündür. Bir çok lenfosit hattındaki hücre ölümü olayları hücrelerin öldürülmesinden ziyade intihara sevk edilmesine bağlıdır. İntihara kalkışan lenfositler aktif olarak DNA'larını parçalamaya başlar. Nükleusu ve sitoplazmasında koyulaşma meydana gelir. Daha sonra kendini küçük parçalara ayırarak makrofajlar tarafından kolayca yutulur hale gelirler. Bu şekilde hücrelerin intihara kalkışma girişimine apoptosis adı verilir. Normal timositler, kemik iliği progenitörleri ve germinal merkezde bulunan B lenfositleri arasında apoptosis olaylarına sık rastlanır⁹. Esansiyel üreme faktörlerinden yoksun kalınması, steroid kullanma, iyonizan radyasyonla veya diğer toksik ajanlarla karşılaşılması ile lenfoid hücrelerde apoptosis başlamaktadır¹². Nonlenfoid hücre tipleri de apoptosis'e uğrayabilmektedir: gerçekten sitotoksik T lenfositleri (Tc), apoptosis'e indüklenen hedef hücreleri öldürebilmektedir¹³.

Mutajenik kimyasal maddelere ve radyasyona maruz kalan hücrelerin ölmesi gerekir. Dietle alınan karsinojenlerin etkisiyle bağırsaktaki epitelyal hücreler fizyolojik bir tarzda ölmektedir. Benzer şekilde derideki mutajenik UV radyasyona maruz kalan hücreler fizyolojik ölümle uzaklaştırılmaktadır¹⁴. Transforme konak hücrelerinde malignansiye engellemek amacıyla TNF aracılığıyla apoptosis tetiklenmektedir.

Üreme sisteminde siklik endometrium değişiklikleri incelendiğinde sekretuar, premenstrüel ve menstruasyon fazlarında glandüler epitel

hücrelerinde kayıplar tespit edilmektedir. Over folliküllerinde meydana gelen apoptosisin follikül stimulan hormon (FSH), süperoksit dismutaz (SOD), askorbik asit (Vit C), N-asetil sistein (endojen glutasyon peroksidazı aktive eder) ve katalaz ile inhibe olduğu gösterilmiştir¹⁵. Prostat ve memedeki hormona duyarlı hücrelerde de steroid hormonlarla düzenlenen hücre ölümü olayları görülmektedir.

Apoptosis temel hücre biyolojisi, immünoloji ve onkolojide yeni bir alan açmıştır. Bu alanda elde edilen yeni bilgiler kanserli istenmeyen hücreleri öldürebilmemizi, otoimmün hastalıkları ve AIDS'teki hücrelerin ölümünü önlememizi, belki yaşlanma süresini uzatmamızı sağlayacaktır.

Apoptosisi başlatan stimuluslar

Apoptosis iki aşamada meydana gelmektedir. Birinci aşamada apoptosisin meydana gelmesine izin veren enzimleri sentezleyen hücre yapıları ortaya çıkar. Buna apoptosise hazırlama (priming) adı verilir. Priming sırasında transglutaminaz ve Ca^{++} -Mg endonukleaz enzimleri sentezlenir. İkinci aşamda ise, apoptosise hazırlanan hücreler bazı stimuluslar etkisinde tetiklenmektedir. Bu olayı anlamak için şöyle bir örnek verilebilir: timus korteksindeki immatür T lenfositleri apoptosise hazır, ancak bu lenfositlerin apoptosise başlaması için T hücre reseptörleri (TCR)'ni kazanması gerekir. Bunun aksine matür T lenfositler apoptosis için hazırlanmamıştır. Bu nedenle TCR kazanan hücreler replikasyona başlar¹⁶.

Apoptosise hazırlayan stimuluslar hakkında çok az bilgi varken tetikleyici olaylar için bazı deliller vardır. Birçoğu reseptörler aracılığıyla sinyal taşıma olaylarını başlatır. Tipik bir memeli hücresinde sitoplazmik serbest Ca^{++} konsantrasyonu 100 nM civarında iken dışında 10.000 kat daha yüksektir (1.3 mM). Hücre içinde bazı kompartmanlarda (mitokondri ve endoplazmik retikulum) serbest Ca^{++} konsantrasyonu daha yüksektir. Bu konsantrasyon farkına bazı enerjiye bağımlı mekanizmalar sebep olur. Bu nedenle hafif travmalar sitoplazmik serbest Ca^{++} konsantrasyonunu 500-1000 nM'a yükseltmektedir. Yeni mRNA tipleri üretilir. Daha sonra *c-fos*, *c-myc* ve bazı ısı-şok proteinlerinin üretilmesi ile apoptosis indüklenirken sitoplazmik Ca^{++} artışını, mRNA ve protein sentezini durduran ajanlar apoptosise hazırlanmış hücrelerin tetiklenmesini inhibe etmektedir. Bu yolda fosfoinositid ve protein kinaz C'nin rolü araştırılmaktadır^{16,17}. Forbol esterleri (protein kinaz

C'yi aktive eder) kortikal timositleri apoptosisten korur. Yani Ca^{++} tetikleme daha uzun süre apoptosisi indükleyemez.

Duyarlı hücrelerde fizyolojik olmayan uyarılar programlı hücre ölümünü tetikleyebilir. Toksikologlar çeşitli yabancı biyolojik maddelerin duyarlı hücrelerde spontan apoptosise neden olduğunu gözlemlemektedir. Aynı şekilde, fizyolojik apoptosis görülen bölgelerden elde edilen hücrelerin bazı teratojenlere maruz bırakılması ile hücre kaybı artmaktadır.

Priming reversibldir. Hücre populasyonlarının regülasyonunda ortak strateji apoptosise hazırlanan hücrelerin sayısının artırılmasıdır. Bu hücreler spesifik bir üreme faktörü tarafından kurtarılmazsa tümü ölecektir. Pozitif seleksiyona katılan faktör, regülatör hücrelerin yüzeyinde sunulabilir veya lokal olarak salınabilir. İmmünolojik reaksiyonlar sırasında germinal folliküller içindeki B hücreleri, dentritik hücrelerin yüzeyinde sunulan antijenik stimulusla seçilir. Aynı şekilde, merkezi sinir sisteminin gelişmesinde, motor nöronlar büyük sayılara ulaşır. Kasa ulaşamayan ve terminal bağlantı (end plate) oluşturamayan nöronlar apoptosisle yokedilir. Kurtarıcı stimuluslar kastan end plağa doğru retrograt olarak geçer. Bu stimuluslardan bazısı özel bir nöron tipine spesifik olup bunlardan biri, nörolökindir (neuroleukin). Nörolökin dorsal kök ganglion hücrelerinin ve diğer nöronların yaşamasını destekler, ayrıca B lenfositleri için trofik ve glikolitik bir enzim olan fosfoglukoz isomeraza identiktir. Nörolökinin moleküler analizinde HIV-1 virüsünün gp120 proteini ile 44 amino asit sırasının homolog olduğu tespit edilmiştir. Ancak, HIV-1 gp120 proteini nöronlarda ölüme sebep olur. Bunun sebebi nörolökin için nöronal reseptörlerin bloke edilmesi olabilir. Glutamat reseptörlerinin aktive edilmesiyle nöron ölümlerinin önleneceği bildirilmiştir¹⁶⁻¹⁸.

Apoptosisi kontrol eden genler

Apoptosis sırasında bazı genlerin ekspresyonu artmaktadır (Tablo I). Günümüzde hücre ölümü olaylarında rol alan en az 25 gen tanımlanmıştır⁹. Apoptosis, Fas ligandı (Fas L) tarafından hücre yüzeyinde bulunan Fas (CD95) proteininin stimülasyonu sonucu indüklenir¹⁹⁻²¹. Fas L ve Fas, TNF ve bunun reseptörüne homologdur. TNF'nün nekroz yapmadan apoptosise neden olduğu bildirilmiş ve bu nedenle yanlış olarak isimlendirildiği anlaşılmıştır²². Çeşitli lenfositler

üzerinde Fas, Tc lenfositleri üzerinde ise Fas L eksprese olmaktadır^{21,23}. *Lpr* (lymphoproliferation) farelerinde Fas yüzey reseptöründe defekt²¹, *Gld* (generalized lymphoproliferative disease) farelerinde ise Fas L'de mutasyon vardır. Non-fonksiyonel Fas veya Fas L'li mutant farelerde (*lpr* veya *gld* fareleri) lenfadenopati ve sistemik lupus eriteminatus (SLE)'u andıran otoimmün hastalıkların geliştiği tespit edilmiş²⁴ ve bu gözlem nedeniyle self-reaktif lenfositlerin eliminasyonda Fas'a bağımlı öldürmenin önemli olduğu düşünülmüştür⁴. Tc, self-reaktif lenfositleri öldürürken iki silaha sahiptir; Fas L ve perforin (=sitolizin). Aktive T lenfositler hem Fas hem de Fas L eksprese ederek intihar edebilir⁴.

Yeni genetik materyalin hayvan veya bitki germ hatlarına yapay olarak yerleştirilmesine transgenез adı verilir²⁵. Transgenetik teknoloji (şekil 1) sayesinde apoptosisin genetik kontrolü daha iyi anlaşılmıştır. Buna göre, programlı hücre ölümü aktif bir olaydır. Ökaryot organizmalardan, bir nematod olan *Caenorhabditis elegans*'ın hücre ölüm mekanizmaları detaylı olarak araştırılmış ve bu parazitin gelişmesi sırasında yaklaşık onda bir hücreyi apoptosisle kaybettiği anlaşılmıştır. Hücre ölümünü kontrol eden 14 geni vardır⁹. Bu genlerden biri olan *ced-9* geni apoptosisi inhibe etmektedir. *ced-3* ve *ced-4*, *ced-9* genini antagonize ederek apoptosise neden olurken *ced-3* ve *ced-4* geni kaybolan mutasyona uğramış nematodlarda apoptosise görülmez. Bu gen ile memelilerde bulunan *bcl-2* geninin aynı yapıda olduğu anlaşılmıştır. *Bcl-2* ilk kez folliküler lenfoma hücrelerinde tespit edilmiştir. Transgenetik farelerde *bcl-2* hücre ömrünü uzatmaktadır. Nöron hücrelerinde *c-myc* tarafından indüklenen apoptosise *bcl-2* ile önlenmektedir^{9,26,27}.

Drosophila'da yapılan genetik analizlerde internal hücre ölüm yolunda etki gösteren bir protein (reaper veya *rpr* geni) keşfedilmiştir. Reaper geni, retinaya spesifik bir promotör tarafından üretilir.

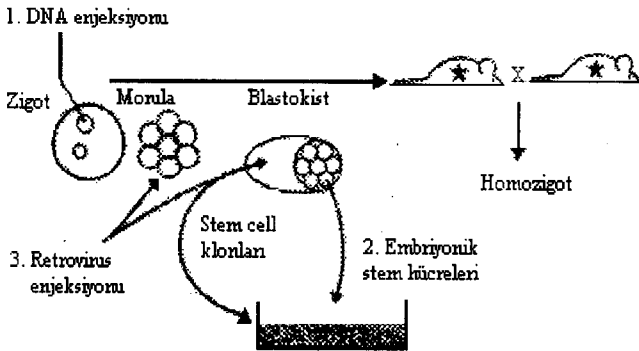
Sinek embriyolarında *rpr* geni yoktur. Bu nedenle sinir sisteminde fazla hücreler öldürememekte iken *rpr* geni aşıl原因an transgenetik sineklerde göz oluşmaz²⁸. Farelerde immatür timik T lenfositlerinde TCR aracılığıyla meydana gelen apoptosise için *nur-77* (steroid/tiroid reseptörler ailesinden ligandı bilinmeyen bir steroid reseptör tipi) ekspresyonu²⁹ ve TCR veya glukokortikoidler aracılığıyla indüklenen apoptosise için *apt 4* gerekli iken bu hücrelerin radyasyonla öldürülebilmesi için tümör süpresör geni p53 gerekmektedir¹². Radyasyon sonucu hücre ölümünde p53 geninin rolü *gadd* (growth arrest and DNA damage) genlerinin olaya katılmasını da içerir³⁰.

Tablo I. Apoptosise kontrol eden genler

Gen	Lokalizasyonu	Apoptosise etkisi
<i>bcl-2</i>	Mitokondri membranı Nükleus zarfı Endoplazmik retikulum	Bloke eder
<i>c-myc</i>	Nükleus	Stimüle eder
p53	Nükleus	Wild tipi stimüle mutant tipi inhibe eder
APO-1/Fas	Hücre membranı	Stimüle eder

Virüsler, infekte ettikleri hücrelerin metabolizmasını etkileyerek hücrelerin intihar girişimini engelleyebilir. Adeno virüslerde E1A geni ekspresyonu hücrede proliferasyona ve aynı zamanda apoptosise'e yol açar. Apoptosise için, *bcl-2*'ye benzeyen ve apoptosise bloke eden E1B geninin ekspresyonuna gerek yoktur. Cowpoxvirus'un kodladığı bir proteaz inhibitörü olan *crmA*, apoptosise katılan birçok proteazı bloke eder³¹.

Negatif seleksiyonun önemi, insanlarda sık görülen B lenfosit kanseri, folliküler lenfoma aracılığıyla gösterilmiştir. Bu hastalığın patogenezindeki en önemli faktör, *bcl-2* adı verilen sellüler bir proteindir. Bu protein bilinmeyen bir mekanizma ile etki ederek çeşitli şekillerde



Şekil 1. Transgenetik teknoloji²⁵. Memelilerde transgenез üç yolla yapılabilir; Yeni fertilize yumurtanın pronükleusuna DNA enjekte edilir. Erken embriyo döneminde retrovirus genleri aşıl原因ır ve daha sonra genetik değişime uğratılmış embriyonik stem hücreleri yerleştirilir.

programlı hücre ölümlerini bloke edebilmektedir. *Bcl-2*'nin normal fonksiyonu bilinmemekte, fakat hücre hayat zincirini regüle ettiği ileri sürülmektedir. Folliküler lenfomada, yüksek seviyede *bcl-2* proteini üretebilen bir B lenfosit klonu ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle B lenfositlerinin ömrü uzar, hücreler birikerek anormal sayılara ulaşır ve kanser ortaya çıkar. Konakta ferdi klonların ve lenfosit topluluklarının aşırı çoğalmasını sağlayan stimulusları önleyerek hücrelerin çoğalmasını sınırlaması nedeniyle, programlı hücre ölümü konak için yararlıdır¹⁰.

Sitotoksik T lenfositleri

Sitotoksik T lenfositleri (Tc lenfositleri veya CTLs de denir), antijen taşıyan hücreleri lize ederek antijen tanınması olaylarına cevap verir. Tc hücreleri genellikle CD8⁺dir ve klas I MHC moleküllerine bağlanan antijenleri tanır. Lenfositler ve antijen sunan hücreler arasındaki diğer etkileşimlerin sonucunda Tc hücreler ve hedefleri arasındaki ilk bağlantı primer olarak bu iki hücrenin yüzeyinde bulunan adhesion molekülleri tarafından başlatılır. Daha sonra TCR ve MHC-peptid kompleksleri arasında spesifik bir bağlanma meydana gelirse her iki hücrede adhesion moleküllerinin artmasını sağlayan sinyaller taşınır. Sonuç olarak hücreler arasında daha kuvvetli ve daha geniş alanları kapsayan bağlanmalar meydana gelir. Sıklıkla membranları arasında parmakvari girintiler ortaya çıkar. Daha sonra Tc hücreler iki mekanizma kullanarak hücreleri öldürür. Birinci mekanizma: hedef hücre üzerine etkili sitotoksik proteinlerin sentezlenmesi ve direkt olarak ekstrasellüler salınmasıdır. Tc hücreler tarafından sekrete edilen toksik proteinler; eskiden sitolizinin olarak bilinen perforin, en az 4 adet serin proteazdan oluşan bir protein ailesi ve evrimsel olarak kompleman komponenti C9 ile akraba olan ve granzyme denen proteinlerden oluşur. Granzyme'ler sekretuar granüllerde bulunan proteazlardır. Granüller, hedef hücre üzerine boşaltılınca perforin membranı deler, granzyme hücre içine girer ve apoptosis tetiklenir³²⁻³⁴. Salgılanan granzyme miktarı ile öldürmenin etkinliği arasında bir korelasyon vardır. Buna alternatif olarak, sitotoksik hücreler henüz anlaşılabilen mekanizmalarla bazı hedef hücreleri stimüle ederek apoptosis'e veya programlı hücre ölümüne sürükleyebilmektedir (indüklenmiş intihar)¹³. Eritrositler tek başına perforinle etkili bir şekilde öldürülebilmektedir. Bunun nedeni membra-

nında meydana gelen hasarı tamir edememesidir.

İmmatür timositler TCR tarafından stimüle edilince veya glukokortikoidlerle karşılaşınca ölmektedir⁹. Ancak bu iki stimulus bir arada olursa fatal değildir³⁵. Glukokortikoid reseptörleri tarafından iletilen sinyal ile TCR arasında bir denge vardır. Bunlar timustaki T lenfositlerinin negatif ve pozitif seleksiyonunu kontrol ederler.

TCR aracılığıyla aktive olan matür T lenfositleri, antijen sunan hücre üzerinde CD28 molekülü ile stimüle olmazsa ölecektir³⁶. Benzer şekilde, B lenfositleri reseptörleri ile aktive olan B lenfositlerinin CD40 molekülleri aracılığıyla T helper lenfositleri ile birlikte stimüle olması gerekir³⁷. CD40, TNF reseptör ailesinden bir proteindir. B lenfositlerinin proliferasyonunu, immünglobulin sınıflarının ayrılmasını ve apoptosisin tetiklenmesini sağlar³⁸.

Süperantijenler (SAG)

Bazı antijenler, özellikle bazı spesifik bakteriyel ürünler T lenfositlerinin özel TCR V_B zincirleri ile etkileşirler. Bu antijenlere SAG adı verilir. Sonuç olarak çok fazla sayıda T lenfositleri stimüle olmaktadır. T lenfositlerinin stimülasyonundan sonra TNF, gamma interferon, IL-2, IL-4 ve IL-10 gibi toksik lenfokinler salınarak apoptosis başlamaktadır³⁹. Böylece, spesifik V_B zinciri taşıyan T lenfositleri sayısı azalmaktadır^{11,40}.

Yapılan son çalışmalarda, spontan olarak SLE, Sjögren sendromu ve romatoid artrit ortaya çıkan MRL-*lpr/lpr* farelerinde apoptosis defekti olduğu gösterilmiştir^{11,21}. Bu farelerin 19. kromozomunda bulunan fas geninde *lpr* mutasyonu olmaktadır. Fas geni, apoptosis'te önemli bir rol oynayan fas antijenini kodlar²⁷. Bu antijen, bir SAG ile stimülasyondan sonra periferik T lenfositlerinin tükenmesine sebep olmaktadır²¹. Genetik defekt nedeniyle *lpr/lpr* fareleri fas antijeni ekspresyone edememekte ve bu nedenle SAG ile stimüle edilen veya self-reaktif T lenfositlerinin periferden temizlenmesi yetersiz kalmaktadır¹¹.

Patolojisi

Apoptosis gelişimsel bir süreçtir. Embriyonun implantasyonundan önce, implantasyon sırasında ve organogenezin tüm devrelerinde, Müller ve Wolf kanallarının involüsyonu, interdijital kostaların yok olması ve kalp gibi içi boş organların gelişimi sırasında meydana gelir. Apoptosis sonunda hücre azalması görülen yerlerden biri sinir sistemidir.

Buradaki hücreler gelişim sırasında aşırı üretilmekte ve daha sonra bir kısmı yokolmaktadır⁴¹.

Apoptosis, meme ve endometrium dahil siklik olarak stimüle olan epiteller içindeki hücrelerin normal turnover'ındaki mitozu dengeler. Kandan inflame dokuya geçen nötrofillerin öldürülmesini ve bu nedenle inflamatuvar cevabın sonlandırılmasını sağlar. Timus korteks hücrelerinde de görülür. Kendi antijenleri ile stimüle olması ile ilgilidir ve glukokortikoidlerle hızlanır. Sitotoksik hücrelerin hedef dokularında da görülür. Tümörlerin büyüme ve gerileme devrelerinde sıklıkla apoptosise rastlanır. Çeşitli toksik uyarılar (örn. sitotoksik droglar, hipertermi, iyonizan radyasyon ve minor hipoksi), özellikle düşük dozda uygulandıkları zaman dokularda apoptosise neden olur. Bu durumlarda apoptosisin bazı hücre tiplerine kısıtlı olduğu görülür. Örn. Spermatozoonların selektif olarak ölmesi dışında testisteki sertoli hücrelerinin radyasyon veya radyoaktif ilaçlardan sonra öldüğü tespit edilmektedir.

Morfoloji

Apoptosis terimi ile programlı hücre ölümü sinonim kabul edilmektedir. Farklı hücre tiplerinin hangi standartlara göre ve hangi şartlarda öldürüldüğüne dair yapılan araştırmalarda ölen hücrelerin yapısının iki şekilde değişime uğradığı tespit edilmiştir: nekroz ve apoptosis (Tablo II). Nekroz; basit olarak ölüm anlamına gelmekte ve nekropsis teriminden köken almaktadır. Uzun yıllar nekroz terimi ölümle aynı anlamda kullanılmıştır. Günümüzde ise apoptosisin farklı türde ölüme neden olduğu anlaşılmıştır. Apoptosis; sonbaharda ağaçlardan yaprakların dökülmesi, saçlı kafa derisinden saçların dökülmesi veya bir gruptan ayrılma anlamına gelen ve grubun sayıca azalması

veya gruptan üyelerin uzaklaşmasını anlatan bir terimdir. Apoptotik hücreler düzenli bir şekilde ölürken, nekroz genellikle çevre şartlarındaki olumsuzluklar sonunda meydana gelir. Nekrozlu hücrelerin ölmesini; ozmotik kontrolün kaybolması, hücre kapsamının dışarı atılması ve inflamasyon tetikler. Hücre kontrolsüz olarak şişer ve parçalanır. Apoptosis ise genellikle düzenli bir sürecin bir parçasıdır. Hücre azalması ve farklı morfolojik değişimlere uğradığını ifade eder. Sonuçta bu hücreler "çok koyu hücreler" haline dönüşür. Sitoplazmaları giderek azalırken nükleusları normal çapta kalır⁴². Metabolik olarak inerte dirler. Protein veya RNA sentezi inhibitörleri apoptosise bloke eder (Tablo III).

Apoptosis, gelişigüzel oluşan bir süreç olmadığı gibi farklı morfolojik özellikleri de vardır. Bu özellikler; nükleer membrana göre kromatinin koyulaşması, organeller etkilenmemesine rağmen hücrenin büzülmesi, bitişik hücrelerden ayrılma ve apoptotik cisimler olarak adlandırılan membrana bağlı fragmanları oluşturmak üzere nükleer ve sitoplazmik tomurcuklanmaların ortaya çıkmasıdır. Apoptosis'in ışık mikroskopu ile izlenebilen 5 kardinal morfolojik özelliği vardır (Şekil 2).

1. Apoptosis, belirli bir bölgedeki hücrelerin tümü yerine bir veya birkaçını etkiler. Etkilenen hücrenin mikrovillus ve kontakt bölgeleri gibi özelleşmiş yüzey yapıları kaybolur. Hücrenin dış sınırları canlı komşu hücrelerden ayrılır. Bu işlem bir kez başlayınca çok hızla seyredir.

2. Hücrenin şekil ve çap değiştirmesi : Apoptosiste ilk önce hücreler çaplarının yarısını kaybeder. Aynı zamanda hücre dansitesi artar. Bunun sebebi olarak dansiteyi sağlayan hücre suyu ve elementlerinin kaybolduğu sanılmaktadır. Su kaybı muhtemelen endoplazmik retikulumda gerçekleşir. Endoplazmik retikulum geçici olarak dilate olur ve hücre yüzeyi ile

Tablo II. Apoptosis ve nekroza uğrayan hücrelerin morfolojik özellikleri¹⁶

	Apoptosis	Nekroz
Histoloji	Canlı doku içindeki hücreler tek tek etkilenir	Hücreler gruplar halinde ölür, doku bütünlüğü bozulur
Sitoloji	Piknotik nükleus, kondanse sitoplazma, yuvarlak hücre fragmanları meydana gelir	Sellüler ödeme, nükleus sağlamdır fakat boyayı zayıf alır
Boyama testleri	Başlangıçta boyayı almaz	Boyayı alır
Sitoplazma ultrastrüktürü	Kompakt, organeller sağlam	Mitokondrilerde şişme, matrikste yoğunlaşma
Nükleus ultrastrüktürü	Kromatin yoğunlaşması, nükleoler dağılma	Kaba kromatin yapıları
Şartlar	Programlı tarzda, Atrofi, Hücresel immün öldürme, Toksinler (düşük dozda)	Fizyolojik değildir, Kompleman, Hipoksi, Toksinler (yüksek dozda)
Dokudaki etkileri	İnflamasyon yoktur, Bitişik hücreler tarafından fagositoz, Üstteki doku yapısını kollabe etmeden hızla involüsyona uğrar	Akut inflamasyon, Daha sonra eskarlaşma

füzyona uğrar. Bu selektif sıvı kaybına dair son zamanlara kadar çok az delil vardı. Son yıllarda tanımlanan Na-P-Cl transport sisteminin inhibisyonu ile etkilenen hücrelerde Na^+ ve su kaybı meydana geldiği anlaşılmıştır. Sitoplazmik organellerin yoğunlaşması ve hücre şeklinin bozulması sonucu hücre hacmi azalır. Apoptosis'e uğrayan hücrelerde genellikle membrana bağlı birkaç cisim (apoptotik cisim) ortaya çıkar.

Günümüze kadar çeşitli dokularda görülen ve farklı isimlerle tanımlanan bazı bulguların apoptotik cisimcikler olduğu anlaşılmıştır; Örn. Tingible cisimciği (lenf bezi aktif merkezlerinde apoptotik lenfositleri kapsayan makrofajlar), Civatte cisimcikleri (psoriasis'te görülen apoptotik keratinositler) ve Councilman cisimcikleri (apoptotik hepatositler).

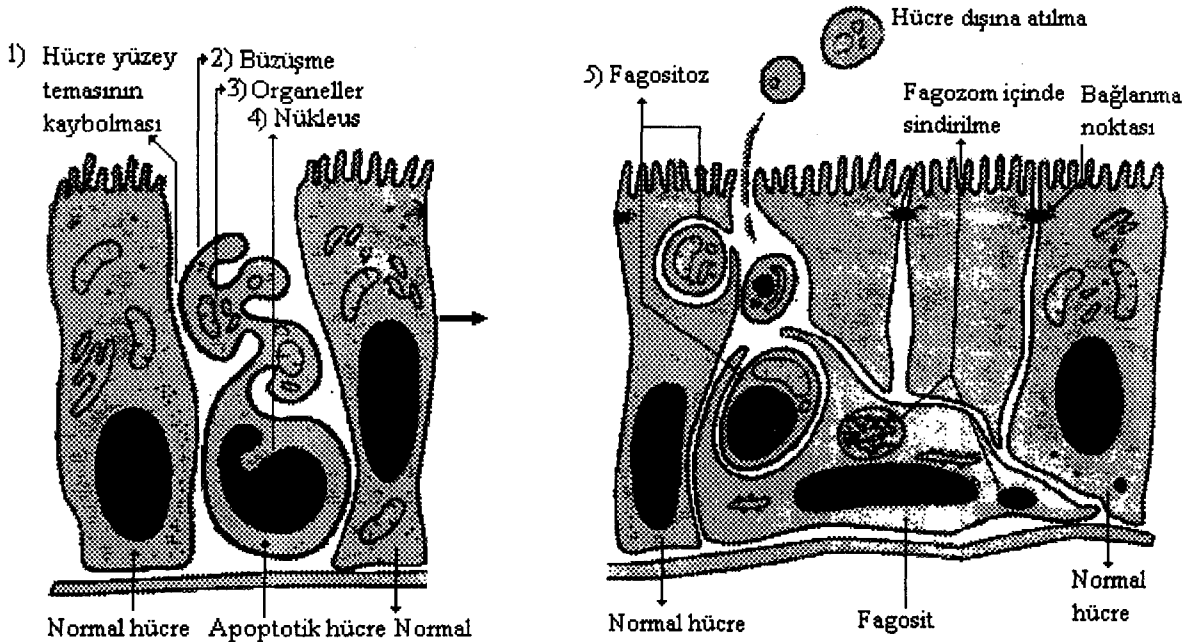
Etkilenen hücrelerin bül yapması ve fragmanlara ayrılması transglutaminase aktivitesi sonucudur. Bu enzimler çapraz bağ proteinleridir. Kuvvetli kimyasal ajanlarla denatüre olmazlar. Transglutamin proteinler apoptotik hücrelerin membranı altında ortaya çıkar. Hücre çapında ve hacminde kontraksiyona sebep olur.

3. Sitoplazmadaki organeller sağlamdır. Mitokondrilerde şişme ve içteki membranlarda rüptür görülmez. Düz endoplazmik retikulumlar genellikle geçici dilatasyona uğrar. Dilate sisternalar

hücre yüzeyine birleşir.

4. **Kromatinin yoğunlaşması** : En bariz morfolojik özellik hücrenin kromatin konfigürasyonunda değişmedir. Normal kromatin paketinde, disk şeklindeki histon oktamerlerinin (nukleosomların) etrafına sarılı 180 DNA baz çifti bulunur. Histon diskleri 300 °A (angstrom)'luk sarmal bir bobin filament oluşturur. Bu büyük filament halkalardaki bazlar topoizomeraz 2 ile ilişkili nükleusun protein matriksine bağlanır. Apoptosis sırasında nukleosom bağlantılarının kopması ve nukleosomun kollabe olması ile kromatinde yoğunlaşma olur. Kromatin nükleus membranı altında yoğunlaşır. Nükleoplasmada osmiofilik cisim demetleri ortaya çıkar. Nükleus birkaç fragmana parçalanır. Bu fragmanlar membrana bağlıdır.

5. **Apoptotik hücrelerin tanınması** : Parenkimal hücreler ve spesifik fagositler apoptotik hücreleri komşu canlı hücrelerden kolayca ayırt eder ve fagositoza başlar. Fagositoz sırasında proteolitik enzim veya toksik oksijen radikalleri salınmaz. Hüresel elemanlar hücre içinden dış ortama atılmadan önce fragmanlara ayrılır ve apoptotik hücreler inflamasyona neden olmadan uzaklaştırılır. Hücre ölümü, inflamasyona neden olmadığı için bitişik canlı hücrelere zarar vermemektedir. Apoptotik hücreler; yutulduğu fagozom içinde progressif dejeneratif değişimlere uğrar,



Şekil 2. Apoptosis'te ortaya çıkan morfolojik değişimler¹⁶

membranları kaybolur, organelleri tanınamaz hale gelir ve sonunda büyük lizozomal rezidüel cisimler oluşur. Bazen apoptotik hücreler fagositozdan kaçabilir. Örn. duktus lümenine atılan apoptotik duktal epitel hücreleri fagosite edilemez.

Spesifik fagositler ve komşu canlı hücreler tarafından apoptotik hücrelerin bağlanması ve fagosite edilmesi için non-immünolojik mekanizmalarla spesifik olarak tanınması gerekir. Makrofajların apoptotik hücrelere bağlanması bazı spesifik şekerlerle (örn. kemiricilerde N-asetil glukozamin ve bu şekerin dimeri olan N,N'-diacetylchitobiose, insan hücrelerinde glukozamin) bloke edilir. Bu nedenle makrofajların yüzeyinde lektin gibi reseptör moleküllerin olduğu ve apoptotik hücre yüzeyindeki şekerlerin bu reseptörlerin ekspresyonunu artırdığı düşünülmektedir. Son yıllarda insan makrofajlarının, makrofaj vitronektin (evvelce hücre adhezini olduğu sanılan bir integrindir) reseptörler aracılığıyla apoptotik nötrofillere ve diğer hücrelere bağlandığı gösterilmiştir.

Apoptosis kinetiği

Zaman ayarlı sinematografik çalışmalarda apoptosisin aniden başladığı tespit edilmiştir. Letal stimulusun başlangıcından sonra değişken bir sürede, etkilenen hücreler aniden büzölmeye, kabarcıklar yapmaya ve kabarcıkları atmaya başlar. Bu faz sadece bir kaç dakika sürer ve küçük apoptotik cisimler oluşur. Hücreler derhal fagosite edilmezse, yavaş yavaş hücrenin dansitesi kaybolur, aynı zamanda hücre membranı bütünlüğü bozulur. Bu değişimler ultrastrüktürel ve boya tutması ile gösterilebilir. Apoptotik cisimler oluşunca tahminen 4-9 saat süre ile doku içinde tespit edilebilecek şekilde kalır. Bu sürede makrofajların fagozomları içinde diğer büyük biyolojik yapılar tamamen parçalanır. Bu sürenin kısa olması nedeniyle, yani hücreler büyük bir hızla yok edildiği için, doku kesitlerinde apoptotik hücrelerin oranındaki küçük artışlar tespit edilememektedir. Örn. üç günden uzun süren ve hücrelerinin yarısı atrofiye giden bir dokuda meydana gelen apoptosis ışık mikroskopu ile görülebilir. Ancak, total hücre sayısının %5'inden azı apoptotiktir.

Apoptosisin kontrol altına alınması

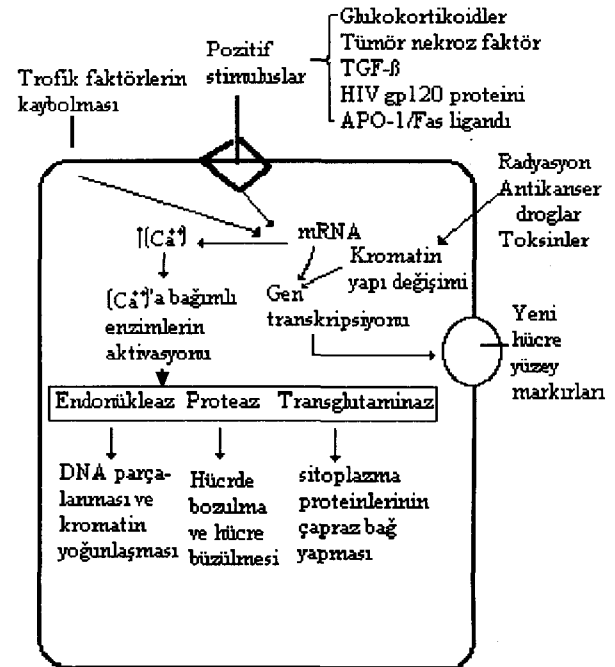
Vücuttaki farklı hücre tiplerinin canlı kalabilmesi için spesifik faktörler gerekir (viabilite faktörleri).

Bu faktörlerin uzaklaştırılması apoptosise neden olur. Koloni stimulan faktör (CSF)'ler, bazı interlökinler (IL-1, IL-3, IL-6), tümör oluşturan "12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-asetat" (TPA) gibi forbol esterleri ve *bcl-2* geni apoptosisi inhibe eder⁴³. Protein ve mRNA sentezini inhibe edenler, protein kinaz C aktivatörleri, tirozin kinaz inhibitörleri, çinko (Zn^{++}) ve asetil sistein, SOD, askorbik asit, alfa tokoferol ve deferoksamin gibi antioksidanların da apoptosisi inhibe ettiği gösterilmiştir⁴⁴.

Apoptosis sırasında görülen metabolik değişimler

Apoptosis sırasında meydana gelen metabolik olaylar sabit değildir. Apoptosise duyarlı birçok hücre tipinde, apoptosis öncesinde hücre içi iyonize Ca^{++} konsantrasyonunda artma görülür⁴⁵. Hücre içi Ca^{++} unun artması ile apoptosisin strüktürel değişimlerine sebep olan latent enzimler aktive olur. Kalsiyuma bağımlı enzimlerden biri olan nükleik endonükleazlar DNA'yı parçalar. Transglutaminaz enzimi ise sitoplazmadaki proteinlerin çapraz bağlar yapmasına neden olur. Kalsiyuma bağımlı bir diğer enzim proteaz (örn. calpain) da hücre iskeletinin bozulmasına neden olur (şekil 3)⁴⁶.

Apoptosis sırasında genellikle ATP şeklinde enerji gerekir. Yaşlı lenfositlerde RNA ve protein



Şekil 3. Apoptosiste metabolik olaylar

sentezini inhibe eden etkenler apoptosisi genellikle bloke ederken aynı etkenler kısa ömürlü nötrofillerde ve bazı lösemi hücrelerinde apoptosisi artırmaktadır. Bu gözlem nedeniyle birçok hücrede fizyolojik hücre ölümünü başlatan ya da bloke eden regülatör proteinlerin bulunduğu kabul edilmektedir. Özel bir hücre tipinde bulunan inhibitör ve stimülatörler arasındaki katabolizmanın karşılıklı oranları protein ve RNA sentezinin durdurulup durdurulmayacağını veya apoptosisin indüklenip indüklenmemesini tayin eder (Tablo III)⁴⁷.

Tablo III. Apoptosisi başlatan ve sonlandıran faktörler^{6,7,12,15,19,20, 21, 27,29, 44-51}

1) Apoptosisi indükleyen faktörler

- Üreme faktörlerinin ortadan kalkması
- Negatif regülatörler (TNF, TGFβ)
- Tümör supresör genleri (p53)
- Diğer genler (*c-myc, bax, bcl-xshort, E1A, ced 3 ve ced 4*)
- Hücre yüzeyine karşı oluşmuş antikolarlar
- Antijenler (APO-1/Fas, CD3)
- Leukosialin (CD43)
- Sitotoksik kanser ilaçları
- Dopamin

2) Apoptosisi süprese eden faktörler

- Üreme faktörleri (CSF'ler, IL'ler, NGF)
- Hücre ölümünü süprese eden genler (*bcl-2, bcl-xlong, EBV LMP 1, mutant p53, E1B 19, E3 147, y1 34.5, p35, ced 9*)
- Tümör promotörü (TPA)
- Makromolekül sentez inhibitörleri (Cycloheximide, Cyclosporin A)
- FSH, SOD, Vit C, N-asetil sistein, katalaz

Üreme faktörlerinin uzaklaştırılmasından sonra apoptosisi

Yaşamaları için üreme faktörlere gereksinim duyan hücreler, bu faktörlerin yok olması ile apoptosise uğramaktadır. Tablo IV'de bazı örnekler özetlenmiştir. Bu yaşama faktörlerinin çoğu spesifik değildir. Hayvan hücrelerinin en az bir yaşama faktörüne ihtiyaç duyduğu sanılmaktadır. Transgenik farelerde insüline benzer yaşama faktörlerinin aşırı üretilmesi sonucu fare daha fazla büyür. Bu nedenle yaşama faktörlerinin embriyonik gelişim sırasında hücre ölümünü inhibe ettiği sanılmaktadır. Bu fenomen optik sinirin glial hücrelerinde apoptotik hücre ölümünün az olduğu ve trombositlerden elde edilen growth faktörlerinin fazladan in vivo verilmesiyle total hücre sayısını artırdığı tespit edilerek gösterilmiştir. Apoptosisin bu mekanizma ile indüklenmesi de steroid hormon antagonistlerinin kullanılmasıyla kanserlerin tedavi edilebileceğini göstermektedir. B lenfositleri de pozitif sinyal alamayan hücrelerin öldürülmesiyle seleksiyona uğramaktadır. Germinal merkezdeki B lenfositleri yüzey immünglobulinlerinin antijen stimülasyonu

almaması sonucu apoptosise uğramaktadır^{47,51,52}.

Tablo IV. Viabilite faktörlerinin uzaklaşmasından sonra apoptosisi görülen hücreler^{47,51,52}

Hücre tipi	Faktör
Hematopoitik progenitor	Çeşitli sitokinler
T lenfosit	IL-2
B lenfosit	Antijen
Eozinofil	IL-5
Nöron	Sinir growth faktor (NGF)
Glial hücreler	Trombositlerden elde edilen growth faktörler
Meme	Östrojen, progesteron
Prostat	Androjen
c-myc eksprese eden fibroblastlar	Serum

Üreme faktörlerin etkisi kaybolunca, *c-myc* protein eksprese eden fibroblastlarda apoptosisi indüklenmektedir. Bu hücrelerden serum ayrılınca apoptosisi başlamaktadır. Aynı şekilde aktive hematopoitik progenitor hücrelerde sitokin (IL-3) etkisi kaybolunca apoptosisi başlar. Bununla birlikte siklik değişim göstermeyen nöronların ve eozinofillerin apoptosise gidiş nedeni bilinmemektedir.

Apoptosinin pozitif tetikleyicileri

Apoptosisi tetikleyen pozitif sinyaller Tablo V'de özetlenmiştir. TCR'ü, timositlerin gelişmesi sırasında apoptosisi tetikleyebilmektedir. Bu işlem kendi antijen ve MHC moleküllerini tanıyabilen timositlerin elimine olmasını sağlamaktadır (negatif seleksiyon). Timusta hücre ölüm olayları yoğun olarak meydana gelmesine rağmen normalde ölü hücreler gösterilemez. Çünkü apoptotik hücreler fagositler tarafından hızla temizlenmektedir. Timus hücrelerinde apoptosisi gözlemlemek amacıyla, bir tek peptidi tanıyacak şekilde bir antijen reseptörü eksprese eden transgenik fareler, bu antijenle karşılaştıktan sonra hızla indüklenir ve dalgalar halinde hücre ölümü görülür. Matür T lenfositleri de antijen reseptörlerle aktive olmaktadır. Her iki durumda da antijen reseptörlerin tetiklenmesi sitoplazmik Ca⁺⁺ konsantrasyonunun artmasına ve protein kinaz C'nin aktive olmasına neden olur¹⁷. Ayrıca, sitokin etkisinden kurtulan veya antijen reseptörlerle tetiklenen hücrelerde ortaya çıkan yardımcı yüzey molekülü CD4⁺'ün tetiklenmesi ile de matür T hücrelerinin apoptosisi indüklenir. Viral zarf glikoproteini tarafından T lenfositlerinin CD4⁺ tetiklenmesi HIV-1 enfeksiyonu sırasında gözlenen apoptotik hücre ölümü olaylarından bazılarını açıklayabilir⁵². Çünkü, AIDS'li hastalarda

görülen ciddi T lenfosit azalmalarının tek sebebi virüslerle infekte hücrelerin öldürülmesi değildir⁵³.

Tablo V. Apoptosisin pozitif tetikleyicileri^{8,18,36,47,52}

Hücre tipi	Tetikleyici
Timosit	T hücre antijen reseptör Dioksin
Timosit ve diğerleri	Fas/Apo 1 aktivasyon
İnfekte hücre	Sitotoksik T hücre lizisi
Lenfosit	Glukokortikoid
Nöron	Glutamat
Hepatosit	Transforming growth factor β
Makrofaj	Bakteriyel infeksiyon
Çeşitli	DNA hasarı Tümör nekroz faktör

Optimal apoptosis için timosit yüzeyinde Fas antijeni eksprese olmalıdır. Fas+ mutant farelerde timik hiperproliferasyon ve otoimmün semptomlar görülür. İnsanlarda Fas antijeninin analoğu Apo I'dir. Apo I'e karşı oluşan antikolar apoptosisi indükleyebilir. TNF'nün hücre reseptörü Fas'ın analoğudur. Bunlar da apoptosisi indükler. Fas antijeni hedef hücrelerde apoptosisi indükleyerek sitotoksik T lenfositlerinin virüsle infekte hücreleri öldürmesini sağlar^{21,27,53-55}.

Lenfositlerde apoptosisi stimüle ettiklerine dair gözlemler lösemi kemoterapisinde bu steroidlerin etkisini açıklayabilir. Glukokortikoidlerin hücreleri nasıl öldürdüğü tam anlaşılamamıştır. Ancak olaya transkripsiyonel regülasyonun katılması gerekir. Çünkü en etkili tümör tedavi metodlarından biri tümör hücrelerinin proliferasyonunu inhibe etmekten ziyade tümör hücrelerinin apoptosisini indüklemektir. Radyasyon veya sitotoksik ilaçlarla DNA hasarının indüklenmesi apoptosise yol açabilir. DNA hasarı sırasında ekspresyonu artan tümör süpresör geni p53'ün apoptosise neden olduğu, p53 geni olmayan homozigot farelerde DNA hasarının apoptosisi indüklememesi ile anlaşılmıştır^{12,53-55}.

Memeli hücrelerinde apoptosinin kontrolü

Organizmada hücre toplulukları arasındaki denge proliferasyon, diferansiyasyon ve hücre ölümü ile kontrol edilir. Hücre ölümünü kontrol eden gen ürünleri nematod (*C.elegans*)'un gelişimi sırasında en iyi tanımlanmıştır. Bu sistemde hücre ölümünün indüklenmesi, regülasyonu ve yutulması ve ölen hücrelerin destrüksiyonu genetik olarak düzenlenmektedir. Bu organizmada her bir hücrenin gelişme sırasındaki kaderi bilinmektedir: Bazı hücrelerin kaderi genetik olarak programlı hücre ölümüdür. Memeli hücrelerinde aktif olarak regüle

edilen hücre ölümünün ilk özelliği apoptosis veya programlı hücre ölümü olarak bilinir ve glukokortikoidlerle muamele edilen lenfositlerin intihar girişimine başladıkları tespit edilmiştir⁵³⁻⁵⁵.

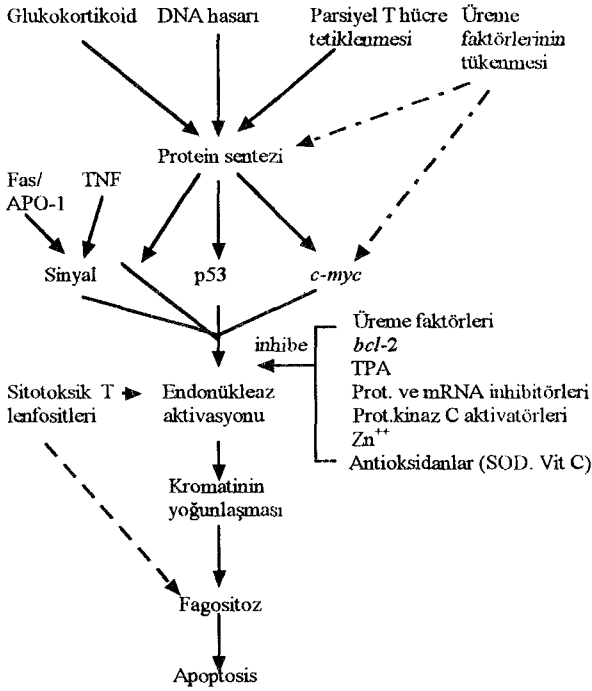
Apoptosisin inhibe edilmesi

İnsanlarda immünoglobulin lokusuna kromozomal olarak *bcl-2* geninin translokasyonundan sonra aşırı üretildiği gösterilen ilk onkogen gen *bcl-2* dir. *Bcl-2*'nin etki mekanizması tamamen anlaşılamamıştır. *Bcl-2* mitokondrilerde bulunur, ancak hücrenin herhangi bir yerinde de tespit edilebilmektedir. *Bcl-2*, hematopoetik ve nöronlar dahil bir çok hücrede aşırı üretilince apoptosisi inhibe eder (şekil 4). *Bcl-2*'ye benzemeyen diğer onkogen proteinler hücre proliferasyonunu stimüle etmez fakat hücrelerin non-siklik durumda yaşamalarını sağlar. *Bcl-2* ile birlikte disregüle *c-myc* ekspresyonu transgenik farelerde hematopoetik tümörlerin gelişmesine neden olur. Çünkü *bcl-2*, *c-myc* tarafından indüklenen apoptosisi inhibe eder ve daha sonra hücreler proliferer olur. *Bcl-2*, tümör hücrelerinin radyasyon ve sitotoksik ilaçların etkisine direnç kazanmasına neden olur. Bu nedenle *bcl-2*'yi aşırı eksprese eden tümörlerde kemo- ve radyoterapinin etkisiz kalacağı düşünülebilir. Bununla birlikte *bcl-2*, apoptosinin tüm indüklenme yollarını bloke edemez. CTL'in sitotoksitesi *bcl-2* tarafından inhibe olmaz, aşırı *bcl-2* eksprese eden timositler halen negatif seleksiyona uğrar ancak hızı azalmıştır. Tümör hücrelerinin apoptosisten kaçmasını sağlayan diğer mekanizmalar; insüline benzer growth faktörleri veya sitokinler gibi çeşitli yaşama faktörlerinin otokrin üretilmesidir⁵³⁻⁵⁵.

Virüsler hücreleri infekte ettikten sonra apoptosisi inhibe ederek hedef hücrelerin daha uzun yaşamasını ve viral replikasyonu sürdürebilme yeteneğindedir. Epstein-Barr virüsü infekte hücrelerde *bcl-2* ekspresyonunu indükler ve ayrıca bir *bcl-2* analoğunu kodlar. Adenovirüslerin E1B proteini (19 kDa) apoptosisi inhibe eder. Adenovirüsler, papillomaviruslar ve SV40 da hücre p53 ile etkileşerek apoptosisi modüle edebilmektedir. *Bcl-2* tarafından apoptosinin inhibe edilmesi sindbis virus tarafından oluşturulan litik infeksiyonları latent infeksiyona çevirebilir. Bu mekanizmanın diğer litik viral infeksiyonların latent infeksiyona çevrilmesinde de etkili olduğu sanılmaktadır⁵³⁻⁵⁵.

Transgenik farelerde post-mitotik serebellar Purkinje hücrelerinde, T hücre antijenleri eksprese olmakta ve bu farelerde tipik serebellar hastalık

gelişmektedir. Transgenik hayvanlarda serebellar hastalıkların T antijeni dozu ile orantılı olarak hücre ölümü olaylarından ileri geldiği anlaşılmıştır. Homozigot retinoblastoma tümör supresör genleri taşıyan farelerde nöron prekürsörlerinin proliferasyonunda artma ile birlikte nöron hücre ölümleri de görülmektedir⁵³⁻⁵⁵.



Şekil 4. Apoptosis'in kontrol mekanizmaları^{24,27,53-55}

APOPTOSIS'İN HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ

Apoptosis ve Kanser : DNA değişimleri anormal hücre birikimlerine sebep olunca kanser ortaya çıkar. Bu hücrelerin bölünme ve ölümleri arasındaki oran kanserin hangi hızda büyüyeceğini tespit eder. Bazı kanserlerde hücre bölünmesi normal hücrelere göre yavaştır fakat hücrelerin uzun ömürlü olması nedeniyle tümör sürekli büyür. Bir çok karsinojen DNA hasarlarına ve DNA replikasyonunda gerekli olan enzimlerle etkileşime sebep olur. Hücreler zararlı stimuluslara bir kaç şekilde cevap verebilir; hasar tamir edilinceye kadar hücre bölünmesini geciktirebilir, apoptosise sürükleyebilir veya hücre çoğalma siklusu kesintiye uğramadan devam eder. Apoptosis malign transformasyondan koruyucu en etkili bir metottur. Çünkü genetik lezyonlu hücreleri

ayıklar. Bölünen hücrelerin birikmesine müsaade edildiği veya malign potansiyeli yüksek genetik variantların uzaklaştırılmadığı anormal apoptosiste kanser gelişmesi artar. *c-myc* hücre bölünmesini stimüle eder. Erken apoptosis sırasında *c-myc* RNA ve protein konsantrasyonlarının arttığı ve *c-myc* onkojeninin fibroblastlarda aşırı eksprese olduğu ve apoptosisin indüklendiği tespit edilmiştir⁵³⁻⁵⁵.

Apoptosisi direkt olarak regüle eden bazı onkojenlerde hücre ölümünü süprese eden genler bulunur (*bcl-2*). Hücrede *bcl-2* proteininin temel olarak bulunduğu yerler; mitokondri membranları, nükleus ve endoplazmik retikulumdur. Tüm lenfoid ve hematopoetik hücrelerde, birçok epitelyal hücrelerde, ve nöronlarda *bcl-2* proteini bulunur. Folliküler B hücreli lenfomalarda yüksek konsantrasyonlarda *bcl-2* proteini bulunur. Ebstein-Barr virüsü proteinleri, Burkitt lenfoması hücrelerinde, *bcl-2* proteinlerinin ekspresyonunu artırır. Bu nedenle üreme faktörleri tükenen kültürlerde normal B lenfositlerine göre *bcl-2* eksprese edenler daha uzun yaşarlar ve hem iyonizan ışınlarla hem de glukokortikoidlere daha dirençlidirler. Yüksek konsantrasyondaki *bcl-2*, hücreleri *c-myc* tarafından indüklenen apoptosisten korur. Aşırı *bcl-2* proteini oluşturması sağlanan transgenik farelerin B lenfositlerinde genellikle büyük hücreli diffüz immunoblastik lenfoma gelişmektedir. Bu tümörlerin yarısında *c-myc* translokasyonu görülmektedir.

p53 tümör süpresyon geninin protein ürünleri hücre siklusu sırasında DNA sentezini geciktirir ve bölünmeyi bloke eder. Birçok insan kanserlerinde p53 geninde mutasyon ve delesyonlar bulunur. Onkojenik virüsler tarafından kodlanan proteinler de p53 genine bağlanarak bu geni inaktive edebilir. p53 geni malfonksiyonunda tamir tamamlanmadan önce DNA çoğalmasını sağlayan sekonder mutasyonlar gelişir ve kanserler görülebilir. p53 geni sadece hücre bölünmesini inhibe etmekle kalmaz ayrıca apoptosise sebep olan bir genin (apoptogene) oluşmasına da neden olur. Myeloid lösemi hücre kültürlerinde aşırı üretilen normal p53 proteinleri apoptosisi indükleyerek hızlı hücre ölümüne neden olur. Çoğalmayı sağlayan *c-myc* gibi onkojenler ile *bcl-2* ve p53 genlerinin arasındaki etkileşimler şekilde 4'de gösterilmiştir. Birçok hücrenin proliferasyona başlaması için dışardan en az iki sinyal alması gerekir. Bu uyarılardan biri proliferasyonun yeterli olduğunu bildirirken, diğeri devam etmesini sağlar. Proliferasyonun yeterli olduğunu bildiren sinyaller (competence signal) hem

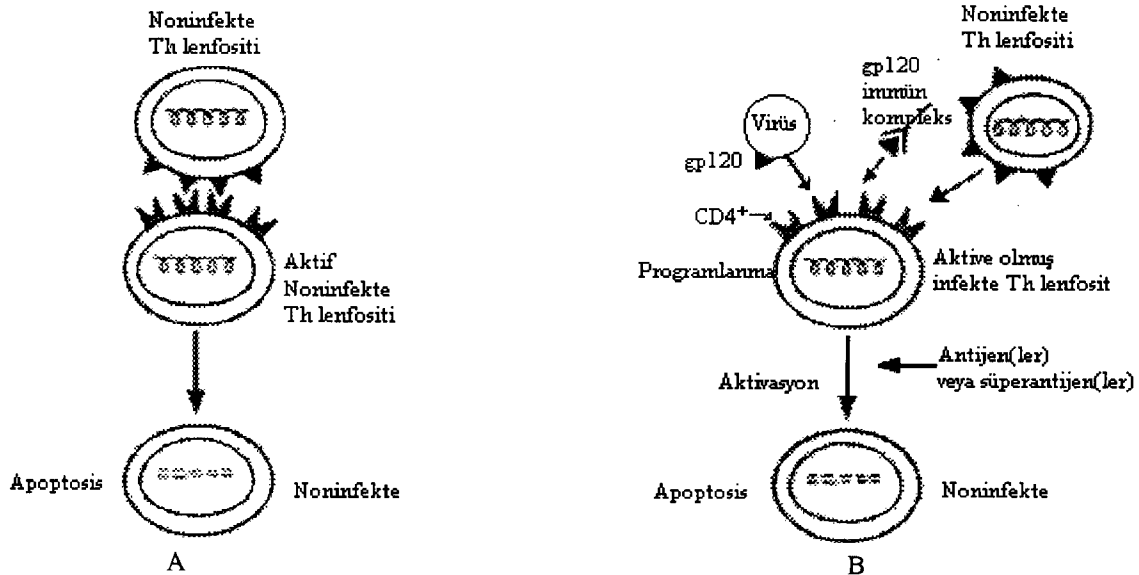
replikasyonu hem de apoptosiste ortaya çıkan metabolik olayları başlatırken proliferasyonu devam ettirici sinyaller de (progression signal) replikasyonu başlatır ve apoptosisi baskılar.

AIDS'te apoptosis : AIDS etkeni human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) CD4⁺ T lenfositlerinde azalmaya ve immün yetmezliğe neden olur. CD4⁺ hücre ölümü ve replasmanı arasında patolojik bir denge vardır. Lenfosit azalma mekanizması karmaşık olmasına rağmen semptomsuz HIV-1 ile infekte kişilerden elde edilen CD4⁺ lenfositler mitozla karşılaştıktan sonra apoptosis nedeniyle ölmeye başlamaktadır. İn vitro şartlarda, asemptomatik HIV-1 ile infekte kişilerden elde edilen matür T lenfositlerinin CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfositlerinin reseptörlerine karşı oluşan antikorlarla veya Ca⁺⁺ iyonu gibi poliklonal aktivasyon yapan etkenlerle karşılaşması apoptosisi indükler. Periferik kandaki normal CD4⁺ T lenfositlerinin HIV-1 ile akut enfeksiyona uğraması da apoptosisi başlatmaktadır. CD4⁺ T lenfositlerinin spesifik olarak öldürülmesi için major histokompatibilite kompleksi klas II'ye bağımlı süperantijenler tarafından T lenfositlerinin aktive edilmesi gerekir (şekil 5). HIV-1 gp120 glikoproteini CD4⁺ antijenine bağlanarak bu etkilere sebep olmaktadır. HIV-1 gp120 ile normal CD4⁺ lenfositlerin inkübe edilmesinden sonra çapraz bağlanmalar olmakta ve T hücre reseptörlerine karşı oluşan antikorlarla stimüle edilen hücreler apoptosise duyarlı hale gelmektedir⁵³. Ayrıca, HIV-1 tat proteininin p53 genine bağlanması ile hücre transfor-

masyonu ve apoptosisin başladığı tespit edilmiştir⁵⁴.

Otoimmün hastalıklarda apoptosis : Genetik rekombinasyonlar ve mutasyonlar sonunda otoreaktif T ve B lenfositleri gelişebilmektedir. Normal şartlar altında, otoantijenlere bağlanan immatür lenfositler apoptosile öldürülmektedir. Bu lenfositler apoptosile öldürülemezse otoimmün hastalıklar ortaya çıkar. Farelerde *lpr* mutasyonu lenfoproliferasyona ve sistemik lupus eritematosus (SLE) şeklinde otoimmün hastalıklara neden olmaktadır. *Lpr* geni APO-1 veya fas proteini olarak adlandırılan bir hücre membranı proteinini kodlar. Bu proteinlere karşı oluşan antikorlar immatür T lenfositlerinde apoptosise neden olur. Farelerde APO-1 veya Fas antijenlerinin endojen bir ligandı *gld* geni tarafından kodlanır. Genetik olarak *gld* geni defekti olan farelerde de lenfoproliferasyon ve SLE görülmektedir. *Lpr* farelerinin APO-1 veya Fas reseptörlerini eksprese edememesi, *gld* farelerinin de APO-1 veya Fas ligandı oluşturamaması sonucu otoreaktif T lenfositleri yok edilememektedir. SLE'lu insanlarda *lpr* geni homologu mutasyonlar bulunmaz, fakat lenfositleri normalden daha fazla *bcl-2* kapsar. Aşırı *bcl-2* üreten transgenik farelerde immün kompleks nefriti gelişebilmektedir.

Yaşlılık ve dejeneratif hastalıklarda apoptosis : Yaşlanırken vücut hücrelerinin kitlesinin azalması genetik olarak kontrol edilmelidir. Çünkü bazı türlerin ortalama bir ömrü vardır. Yaşlanma sırasında prematüre veya aşırı hücre kaybı ile organ disfonksiyonları ve hastalıklar ortaya çıkmaktadır.



Şekil 6. AIDS'te apoptosis: direkt (A) veya indirekt (B) mekanizmalar⁵³.

Bu hastalıklar içinde en fazla görüleni santral sinir sistemini dejeneratif hastalıklarıdır. Genellikle apoptosiste görülen biyokimyasal ve strüktürel değişimlere ölen nöronlarda rastlanmaz. Ancak RNA ve protein sentezi gerektiren hücre ölüm mekanizmalarına rastlanır. Trofik faktörlerin kaybolması ve eksitator nörotransmitterlerle aşırı karşılaşma nöronlar üzerine toksik etki yapmaktadır. Sempatik nöronlarda yüksek seviyede *bcl-2* ekspresyonu hücre ölümünü engeller.

Alzheimer hastalığında beyinde β -amiloid birikmektedir. Biriken bu protein nedeniyle nöronların trofik faktörleri alması engellenmekte ya da nöronların eksitator amino asit etkisine duyarlılığı artmaktadır³.

Tedavi amacıyla apoptosisten yararlanılması

Belirli hücrelerin apoptosise duyarlılığını azaltan veya artıran droglar geliştirilebilir. Apoptosise artıran droglar kemoterapötik droglara dirençli kanser hücrelerinin yok edilmesini sağlayabilir. Günümüze kadar apoptosise antagonize eden genlerden *bcl-2* üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Fare immün sisteminde periferik lenfositlerin normal yaşaması için *bcl-2* gerekir. *bcl-2* ekspresyonunu önleyen veya hücrede spesifik kalsiyuma bağımlı enzimleri aktive ederek apoptosise indükleyebilen yeni kanser ilaçlarının geliştirilmesi mümkündür. Tümörlerde aşırı miktarda *bcl-2* eksprese eden tümörlerin tedaviye kötü cevap vereceği bilinmektedir²⁷. Bu nedenle *bcl-2* ekspresyonunun bloke edilmesi daha da önem kazanmaktadır.

Topoizomeraz inhibitörleri, alkilleyici droglar, antimetabolitler ve hormon antagonistleri şeklinde sınıflandırılan bir çok kanser ilacı duyarlı hücrelerde apoptosise neden olur. Tipik olarak sitostatik ajanlara dirençli olan ve yavaş büyüyen malign tümörlerin kemoterapisi için kanser hücrelerinin apoptosise girme meyli çok önemlidir. Yavaş büyüyen B lenfosit tümörlerinde yüksek konsantrasyonlarda *bcl-2* bulunmakta ve bu tümörler lenfosit apoptosisini indükleyerek etki eden purin analogları (örn. 2-chlorodeoxyadenosine) ile tedaviye daha iyi cevap vermektedir. Bu nedenle kanser tedavisinde kemoterapinin etkinliğinin artırılması için spesifik biyokimyasal hedeflerin yok edilmesi yanısıra apoptosise yol açan metabolik olayların da başlatılması gereklidir⁵³⁻⁵⁵.

AIDS'teki lenfosit azalmasından apoptosise mekanizması sorumlu ise apoptosisteki temel metabolik yollardan biri bloke edilerek immünyet-

mezlik geciktirilebilir.

Gen tedavisi ile nörotropik hormonların tekrar üretilmesi santral sinir sisteminin dejeneratif hastalıklarında yararlı olabilir.

Gelecek yıllarda apoptosise daha iyi anlaşılması ile normal yaşlanma sırasında hücre ölümünü düzenleyen mekanizmalar tespit edilecek ve belki fizyolojik hücre ölümünü engelleyen farmakolojik uygulamalar geliştirilecek ve yaşlanma süresi uzatılabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26:239-57.
2. Paramithiotis E, Jacobsen KA, Ratcliffe MJ. Loss of surface immunoglobulin expression precedes B cell death by apoptosis in the bursa of Fabricius. *J Exp Med* 1995;181(1):105-13.
3. Lorenzo A, Razzaboni B, Weir GC, Yankner BA. Pancreatic islet cell toxicity of amylin associated with type-2 diabetes mellitus. *Nature* 1994; 368(6473):756-60.
4. Watanabe D, Suda T, Hashimoto H, Nagata S. Constitutive activation of the Fas ligand gene in mouse lymphoproliferative disorders. *EMBO J* 1995;14(1):12-8.
5. Margolis RL, Chuang DM, Post RM. Programmed cell death: implications for neuropsychiatric disorders. *Biol Psychiatry* 1994; 35(12):946-56.
6. Enokido Y, Hatanaka H. Neuronal cell death and apoptosis. *Gan To Kagaku Ryoho* 1994; 21(5): 615-20.
7. Ziv I, Melamed E, Nardi N, Luria D, Achiron A, Offen D, et al. Dopamine induces apoptosis-like cell death in cultured chick sympathetic neurons—a possible novel pathogenetic mechanism in Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 1994;170(1): 136-40.
8. Sell C, Baserga R, Rubin R. Insulin-like growth factor I (IGF-I) and the IGF-I receptor prevent etoposide-induced apoptosis. *Cancer Res* 1995; 55(2):303-6.
9. Whyte M. The birth of cell-death research. *TIBS* 1994;392-3.
10. Goodman JW. The immune response. In : Stites DP, Terr AI, Parslow TG (eds). *Basic & Clinical Immunology*. 8th ed. Appleton & Lange. Lebanon 1994:40-9.

11. Steinberg AD. Mechanisms of disordered immune regulation. In : Stites DP, Terr AI, Parslow TG, eds. Basic & Clinical Immunology. 8th ed. Appleton & Lange. Lebanon 1994:380-6.
12. Xia F, Wang X, Wang YH, Tsang NM, Yandell DW, Kelsey KT, et al. Altered p53 status correlates with differences in sensitivity to radiation-induced mutation and apoptosis in two closely related human lymphoblast lines. Cancer Res 1995;55(1):12-5.
13. Imboden JB. T lymphocytes & naturel killer cells. In : Stites DP, Terr AI, Parslow TG (eds). Basic & Clinical Immunology. 8th ed. Appleton & Lange. Lebanon 1994:94-104.
14. Kane KS, Maytin EV. Ultraviolet B-induced apoptosis of keratinocytes in murine skin is reduced by mild local hyperthermia. J Invest Dermatol 1995;104(1):62-7.
15. Tilly JL, Tilly KI. Inhibitors of oxidative stress mimic the ability of follicle-stimulating hormone to suppress apoptosis in cultured rat ovarian follicles. Endocrinology 1995;136(1):242-52.
16. Wyllie AH, Duwall E. Cell death. In : McGee JOD, Isaacson PG, Wright NA. Eds. Oxford Textbook of Pathology. Vol. 1. Oxford University Press. Oxford-New York-Tokyo. 1992:141-57.
17. Lahti JM, Xiang J, Heath LS, Campana D, Kidd V. PITSLRE protein kinase activity is associated with apoptosis. J Mol Cell Biol 1995;15(1):1-11.
18. Copani A, Bruno VM, Barresi V, Battaglia G, Condorelli DF, Nicoletti F. Activation of metabotropic glutamate receptors prevents neuronal apoptosis in culture. J Neurochem 1995; 64(1):101-8.
19. Ju ST, Panka DJ, Cui H, Ettinger R, el-Khatib M, Sherr DH, et al. Fas(CD95)/FasL interactions required for programmed cell death after T-cell activation. Nature 1995;373(6513):444-8.
20. Brunner T, Mogil RJ, LaFace D, Yoo NJ, Mahboubi A, Echeverri F, et al. Cell-autonomous Fas (CD95)/Fas-ligand interaction mediates activation-induced apoptosis in T-cell hybridomas. Nature 1995;373(6513):441-4.
21. Dhein J, Wälczak H, Baumler C, Debatin KM, Krammer PH. Autocrine T-cell suicide mediated by APO-1/(Fas/CD95). Nature 1995;373(6513): 438-41.
22. Rowe PM. Cell death according to plan. Lancet 1994;344:812.
23. Munker R, Lubbert M, Yonehara S, Tuchnitz A, Mertelsmann R, Wilmanns W. Expression of the Fas antigen on primary human leukemia cells. Ann Hematol 1995;70(1):15-7.
24. Reap EA, Leslie D, Abrahams M, Eisenberg RA, Cohen PL. Apoptosis abnormalities of splenic lymphocytes in autoimmune lpr and gld mice. J Immunol 1995;154(2):936-43.
25. Kendrew J. (ed). The Encyclopedia of Molecular Biology. Oxford: Blackwell Science 1994;1165.
26. Vaux DL. Toward an understanding of the molecular mechanisms of physiological cell death. Proc Natl Acad Sci USA 1993;90:786-9.
27. Tilly JL, Tilly KI, Kenton ML, Johnson AL. Expression of members of the bcl-2 gene family in the immature rat ovary: equine chorionic gonadotropin-mediated inhibition of granulosa cell apoptosis is associated with decreased bax and constitutive bcl-2 and bcl-xlong messenger ribonucleic acid levels. Endocrinology 1995; 136(1):232-41.
28. White K, Grether ME, Abrams JM, Young L, Farrell K, Steller H. Genetic control of programmed cell death in Drosophila. Science 1994;264(5159):677-83.
29. Yazdanbakhsh K, Choi JW, Li Y, Lau LF, Choi Y. Cyclosporin A blocks apoptosis by inhibiting the DNA binding activity of the transcription factor Nur77. Proc Natl Acad Sci USA 1995;92(2):437-41.
30. Zhan Q, Lord KA, Alamo I Jr, Hollander MC, Carrier F, Ron D, et al. The gadd and MyD genes define a novel set of mammalian genes encoding acidic proteins that synergistically suppress cell growth. Mol Cell Biol 1994;14(4):2361-71.
31. Komiyama T, Ray CA, Pickup DJ, Howard AD, Thornberry NA, Peterson EP, et al. Inhibition of interleukin-1 beta converting enzyme by the cowpox virus serpin CrmA. An example of cross-class inhibition. J Biol Chem 1994;269(30): 19331-7.
32. Gülmezoğlu E, Ergüven S. İmmünoloji. Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti. Ankara 1994: 152,173.
33. Vanguri P, Lee E, Henkart P, Shin ML. Hydrolysis of myelin basic protein in myelin membranes by granzymes of large granular lymphocytes. J Immunol 1993;150(6):2431-9.
34. Heusel JW, Wesselschmidt RL, Shresta S, Russell JH, Ley TJ. Cytotoxic lymphocytes require granzyme B for the rapid induction of DNA fragmentation and apoptosis in allogeneic target cells. Cell 1994;76(6):977-87.
35. Ashwell JD, Berger NA, Cidlowski JA, Lane DP, Korsmeyer SJ. Coming to terms with death:

- apoptosis in cancer and immune development. *Immunol Today* 1994;15(4):147-51.
36. Punt JA, Osborne BA, Takahama Y, Sharrow SO, Singer A. Negative selection of CD4+CD8+ thymocytes by T cell receptor-induced apoptosis requires a costimulatory signal that can be provided by CD28. *J Exp Med* 1994;179(2):709-13.
37. Tsubata T, Wu J, Honjo T. B-cell apoptosis induced by antigen receptor crosslinking is blocked by a T-cell signal through CD40. *Nature* 1993;364(6438):645-8.
38. Sato T, Irie S, Reed JC. A novel member of the TRAF family of putative signal transducing proteins binds to the cytosolic domain of CD40. *FEBS Lett* 1995;358(2):113-8.
39. Miethke T, Wahl C, Heeg K, Wagner H. Superantigens: the paradox of T-cell activation versus inactivation. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;106(1):3-7.
40. Özerol İH. Superantijenler. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 1994;1(3):219-29.
41. Oppenheim RW, Houenou LJ, Johnson JE, Lin LF, Li L, Lo AC, et al. Developing motor neurons rescued from programmed and axotomy-induced cell death by GDNF. *Nature* 1995;373(6512):344-6.
42. Harmon BV. An ultrastructural study of spontaneous cell death in a mouse mastocytoma with particular reference to dark cells. *J Pathol* 1987;153:345-55.
43. Bratton DL, Hamid Q, Boguniewicz M, Doherty DE, Kailey JM, Leung DY. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor contributes to enhanced monocyte survival in chronic atopic dermatitis. *J Clin Invest* 1995;95(1):211-8.
44. Delia D, Aiello A, Formelli F, Fontanella E, Costa A, Miyashita T, et al. Regulation of apoptosis induced by the retinoid N-(4-hydroxyphenyl) retinamide and effect of deregulated bcl-2. *Blood* 1995;85(2):359-67.
45. Oshimi Y, Miyazaki S. Fas antigen-mediated DNA fragmentation and apoptotic morphologic changes are regulated by elevated cytosolic Ca²⁺ level. *J Immunol* 1995;154(2):599-609.
46. Carson DA, Ribetto JM. Apoptosis and disease. *Lancet* 1993;341:1251-4.
47. Collins MKL, Rivas AL. The control of apoptosis in mammalian cells. *TIBS* 1993:307-9.
48. Sabbatini P, Chiou SK, Rao L, White E. Modulation of p53-mediated transcriptional repression and apoptosis by the adenovirus E1B 19K protein. *Mol Cell Biol* 1995;15(2):1060-70.
49. Dragone LL, Barth RK, Sitar KL, Disbrow GL, Frelinger JG. Disregulation of leukosialin (CD43, Ly48, sialophorin) expression in the B-cell lineage of transgenic mice increases splenic B-cell number and survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92(2):626-30.
50. Horie M, Broxmeyer HE. The combination of Steel factor and GM-CSF blocks apoptosis induced by retinoic acid and upregulates AP-1 in a human growth factor-dependent cell line. *Exp Hematol* 1995;23(2):168-73.
51. Martinou I, Fernandez PA, Missotten M, White E, Allet B, Sadoul R, et al. Viral proteins E1B19K and p35 protect sympathetic neurons from cell death induced by NGF deprivation. *J Cell Biol* 1995;128(1-2):201-8.
52. Tani Y, Donoghue E, Sharpe S, Boone E, Lane HC, Zolla-Pazner S, et al. Enhanced in vitro human immunodeficiency virus type 1 replication in B cells expressing surface antibody to the TM Env protein. *J Virol* 1994;68(3):1942-50.
53. Gougen ML, Montagnier L. Apoptosis in AIDS. *Science* 1993;260:1269-70.
54. Longo F, Marchetti MA, Castagnoli L, Battaglia PA, Gigliani F. A novel approach to protein-protein interaction: complex formation between the p53 tumor suppressor and the HIV Tat proteins. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;206(1):326-34.
55. Williams GT, Smith CA. Molecular regulation of apoptosis: genetic controls on cell death. *Cell* 1993;74:777-9.

Yazışma adresi : Yrd.Doç.Dr.İ.Halil ÖZEROL
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD
44300 MALATYA