

Zimosan Sinyal İletisi ve Dalak Tirozin Kinazi

Demet Ünsal, Meryem Temiz, Bahar Tunçtan, Seyhan Şahan Fırat

Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Ana Bilim Dalı, Mersin - Türkiye

Yazışma Adresi / Address reprint requests to: Seyhan Şahan Fırat
Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Ana Bilim Dalı, Mersin - Türkiye
Elektronik posta adresi / E-mail address: seyhansahan06@gmail.com
Kabul tarihi / Date of acceptance: 27 Haziran 2014 / June 27, 2014

ÖZET

Zimosan sinyal iletişi ve dalak tirozin kinazi

Zimosan, *Saccharomyces cerevisiae*'nin hücre duvarından elde edilen, polisakkarit zincirlerinden oluşan bir bileşendir. Zimosan, başlıca 1,3-β-glukan, 1,6-β-glukan ve α-mannan gibi çapraz bağlı polisakkaritlerden oluşmaktadır. Zimosan, fungal sepsis, septik olmayan şok, çoklu organ yetmezliği, akut peritonit, irritabl bağırsak sendromu gibi enflamatuvar hastalıkların patojenezinde rol oynamakta ve ilgili deneysel modellerde kullanılmaktadır. Zimosanın monosit, makrofaj ve dendritik hücreler gibi immün sistem hücrelerindeki etkilerine *toll-like receptor* 2, dectin-1, mannoz ve kompleman reseptörleri gibi çeşitli reseptörler aracılık etmektedir.

Dalak tirozin kinazi (Dtk), 72 kDa ağırlığında reseptör ile kenetli olmayan bir intraselüler tirozin kinazdır. Dtk'nin, mast hücreleri, nötrofiller, makrofajlar ve trombositler gibi tüm hematopoetik hücrelerde ve fibroblastlar, epitel, sinir ve damar endotel hücreleri gibi hematopoetik olmayan hücrelerde ekspresye edildiği gösterilmiştir. Dtk, zimosanın dectin-1 reseptörü aracılığıyla oluşturduğu hücresele yanıtı aracılığıyla eden önemli bir kinazdır. Bu derlemede, zimosan sinyal iletişinde Dtk'nin rolü değerlendirilmiştir.

Anahtar sözcükler: Zimosan, Dalak tirozin kinazi, dectin-1, enflamasyon

ABSTRACT

Signal transduction of zymosan and spleen tyrosine kinase

Zimosan is a component produced by polysaccharide which is obtained from cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*. Zimosan consists of cross-linked polysaccharides such as 1,3-β glucan, 1,6-β glucan, and α-mannan. Zimosan plays a role in inflammatory diseases such as fungal sepsis, non-septic shock, multiple organ dysfunction syndrome, acute peritonitis, irritable bowel syndrome and it is used in related experimental models. Toll-like receptor 2, dectin-1, mannose, and compleman receptors mediate zymosan's effects on immune system cells such as monocytes, macrophages, and dendritic cells.

Spleen tyrosine kinase (Syk) is a cytosolic, intracellular, 72-kDa protein tyrosine kinase. It is demonstrated that Syk is expressed in hematopoietic cells such as mast cells, neutrophils, macrophages, B cells, leukocytes, and platelets and in non-hematopoietic cells such as epithelial, fibroblast, neuronal cells, and vascular endothelial cells. Spleen tyrosine kinase is a critical kinase that mediates cellular responses through dectin-1 receptor by zymosan. In this review, the role of syk in is evaluated in the signal transduction of zymosan.

Key words: Zimosan, Spleen tyrosine kinase, dectin-1, inflammation

GİRİŞ

Zimosan, *Saccharomyces cerevisiae*'nin hücre duvarı bileşeni olup polisakkarit polimerlerinden oluşan, deneysel çalışmalarda kullanılan bir moleküldür. Deneysel enflamasyon modeli oluşturmak ve immün yanıtların etkinleştirilmesi için sıklıkla kullanılmaktadır (1). Zimosan uygulanan makrofaj hücrelerinde, tümör nekroze edici faktör (TNF)-α ve interlökin (IL)-1 gibi proenflamatuvar sitokinlerin oluşumu artmaktadır. Bununla birlikte, zimosan indüklenbilir siklooksijenaz (COX-2) ekspresyonunu ve Dalak tirozin kinazi (Dtk) etkinliğini de artırmaktadır (2).

İmmün yanıtların etkinleştirilmesinde rol oynayan Dtk, 72 kDa molekül ağırlığında olup reseptör kenetli olmayan bir protein kinazdır. Hücre büyümesi, farklılaşması, metabolizması ve migrasyonu ile apoptozu düzenleyen sinyallerin etkinleşmesi gibi önemli fizyolojik olaylarda rol

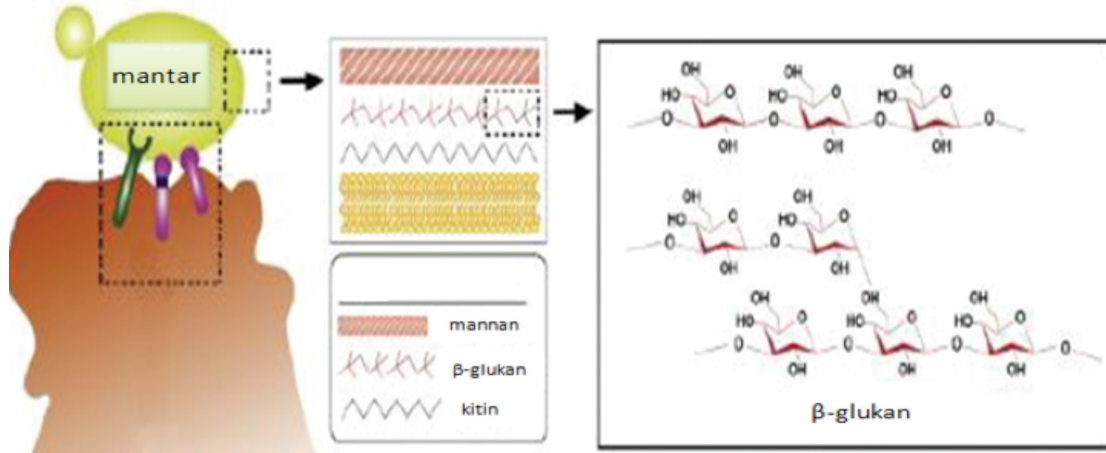
oynamaktadır (3-5). Bu derlemede zimosan sinyal iletişinde Dtk'nin rolü değerlendirilmiştir.

Zimosanın Özellikleri

S. cerevisiae'nin hücre duvarının bir bileşeni olan zimosan, *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda fagositik ve enflamatuvar modellerde kullanılmaktadır (1,6).

Zimosan, başlıca 1,3-β-glukan ve 1,6-β-glukan ile α-mannan gibi yüksek çapraz bağlı polisakkaritlerden ve az sayıda öteki polisakkarit polimerlerinden oluşmaktadır (Şekil 1) (6,7). Bu bileşenlerin her biri, bu mayanın doğal immün sistem tarafından tanınmasını sağlamaktadır (1,8,9).

Zimosan, deneysel enflamasyon oluşturmak için sıklıkla kullanılmaktadır. Kolay hazırlanabilmesi, hazırlanan ürünler arasında tutarlılığın olması ve tanımlanmış, sınırlı sayıda bileşenden oluşması deneylerdeki avantajlarındandır (10).



Şekil 1: Zimosanın yapısı: Mannan, β-glukan ve kitin.

Zimosanın Patofizyolojik Olaylardaki Rolü

Enflamasyon, organizmada enfeksiyon, fiziksel, kimyasal ve öteki etkenlerin neden olduğu bir doku zedelenmesine karşı hücrel ve hümmoral düzeyde oluşan güçlü bir fizyolojik yanittir. Zimosan, akut peritonit, septik olmayan şok ve artrit gibi enflamatuvar hastalıkları tetikleyen, bakteriyel ve endotoksik olmayan bir moleküldür (11-14).

Zimosanın hayvanlara periton, kas, kolon, eklem veya pençe içine uygulanması, intraportal infüzyonu ya da trakea içine aerosol biçiminde uygulanması sonucu, akut ve şiddetli enflamatuvar yanıt oluşmaktadır (15-18). Zimosan, başlıca monosit ve makrofajlar gibi immün sistem hücreleri tarafından tanınmakta ve fagosite edilmekte olup, hücrel etkinlikte artışa neden olmaktadır (19,20). Zimosan aracılığıyla makrofajlardan TNF- α , IL-6 ve IL-8 gibi sitokinler ile arşidonik asit (AA) gibi enflamatuvar ürünler salıverilmektedir. Bununla birlikte, polimorfonükleer lökosit (PMN)'lerin etkinleşmesinin ardından reaktif oksijen türleri (ROT) ve AA metabolitleri oluşmakta, lizozomal proteazlar salıverilmekte, sonuçta bunlara bağlı olarak organ zedelenmesi gelişebilmektedir (19). Sitokinlerin salıverilmesi, ateş, vazodilatasyon ve öteki immün hücrelerin enflamasyon bölgesine gitmesi gibi patofizyolojik değişikliklerle birlikte, doku zedelenmesi, çoklu organ yetmezliği (ÇOY) ve ölümlerle sonuçlanabilmektedir (21).

Zimosanın peritonik makrofajlarda TNF- α transkripsiyonunun düzenlenmesinde kritik rol oynayan transkripsiyon faktörü, nükleer faktör κ B (NF- κ B)'nin inhibitör proteini, κ B inhibitörü (I κ B- α)'nın degradasyonuna bağlı olarak NF- κ B'yi

etkinleştirdiği gözlenmiştir (22). Zimosanla oluşturulan şokta, NF- κ B, TNF- α 'ya ek olarak öteki pek çok sitokinlerin gen transkripsiyonunu da düzenlemektedir. Zimosanın bileşenlerinden 1,3- β -glukan, NF- κ B'yi etkinleştirebilmekte ve TNF- α 'yı uyarabilmektedir (23).

TNF- α çeşitli hücrelerde indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS)'nin indüksiyonuna yol açarak, NO oluşumunu artırmakta ve bunun sonucunda organ zedelenmesi oluşmaktadır. Enflamasyon ve şokta enflamatuvar sitokinler ve bakteriyel hücre duvarı bileşenleri endotel ve düz kas hücreleri ile makrofajlarda iNOS aracılığıyla NO üretimini uyarılmaktadır. Şoktaki organ ve doku zedelenmesinde *in vivo* koşullarda NO miktarının artışı, damar direncinin ve kasılabilirliğinin azalması sonrasında hipotansiyona neden olmaktadır (24). Jansen ve ark. farelerde zimosanla oluşturulan çoklu organ yetmezliği modelinde, peritonik makrofajlarda üretilen NO miktarında belirgin bir artış olduğunu gözlemlemiştir (25).

Zimosan, hücre içi kalsiyum düzeyini artırmakta ve makrofajlarda sitozolik fosfolipaz A₂ (FLA₂)'yi Ser⁵⁰⁵ bölgesi üzerinden fosforilleyerek AA salıverilmesini uyarılmaktadır (26,27). Periton içine zimosan enjeksiyonu, farelerde eikozanoid ve plazma sızıntısı oluşumuna neden olmaktadır (18,28). Zimosan, *in vitro* koşullarda lökositlerde AA (29) ve FLA₂ (30) salıverilmesini uyarılmaktadır. Zimosanın fare pençesine enjeksiyonu ile fosfolipaz aracılığıyla membran fosfolipitlerinden salıverilen AA'dan prostanoitlerin oluşmasına aracılık eden COX-2 enziminin periferik ve santral dokularda ekspresyonunda artışa neden olduğu gösterilmiştir (15).

Zimosan, enflamatuvar sitokin üretimini güçlü bir uyarandır ve immüoglobulinlerin yokluğunda kompleman sistemini etkinleştirmektedir (20,31). Kompleman sistemi, immün yanıtta kritik rol oynayan doğal immünitenin önemli bir bileşeni olarak tanımlanmaktadır. Bu sistem, plazma ve hücre yüzeyinde bulunan, immün sistemi tanıyan ve yabancı maddelerin hücre yanıtına katılan 30'dan fazla proteinden oluşmaktadır (32).

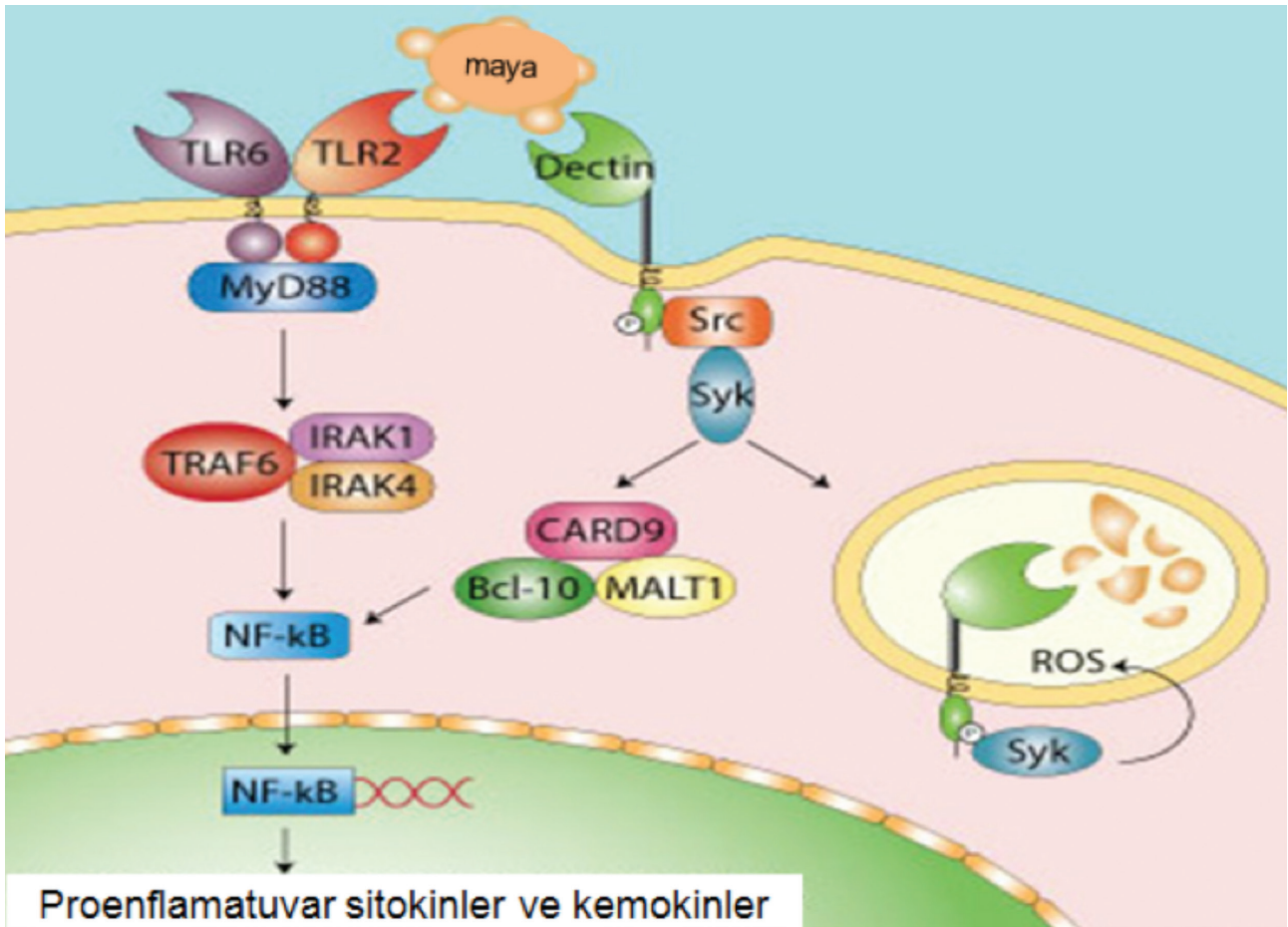
Kompleman sisteminin klasik ve alternatif yoldan etkinleşmesi sonucu oluşan C3b opsonizasyonda, C5a polimorfaları hedef bölgeye çekmede, C3a mast ve bazofilik hücreleri uyarmada, C3a ve C5a da düz kasların kasılmasında rol oynarlar (33). Zimosanın eklem içine enjeksiyonu sonucunda alternatif kompleman sistemi etkinleşmekte ve etkinleşen makrofajlardan lizozomal hidrolaz enziminin salgılanması artrit oluşumuna neden olmaktadır (16,34).

Zimosanın Sinyal İleti Yolu ve Etkisinin Düzenlenmesi

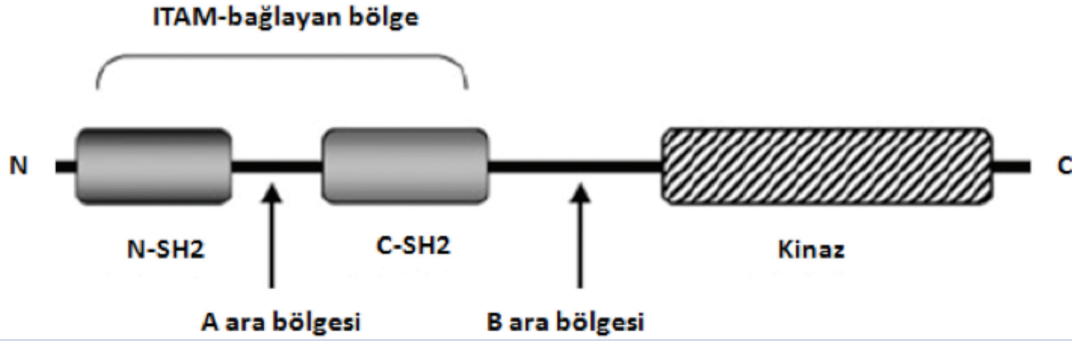
Zimosanın monositler, makrofajlar ve dendritik hücreler gibi immün sistem hücrelerindeki etkilerine *toll-like receptor 2* (TLR2), dektin-1, mannoz ve kompleman reseptörleri gibi çeşitli reseptörler aracılık etmektedir (8,9,19).

TLR ailesi üyeleri, geniş bir mikroorganizma grubunu tanımaya ve enflamatuvar yanıt oluşturmaya aracılık etmekte olup, etkin bir konak savunması için gereklidir. Günümüzde, TLR'lerin insanlarda yaklaşık on değişik türü olduğu bildirilmiştir (35). Zimosan, TLR2'yi etkinleştirebilmekte (32) ve TLR2 aracılıklı NF- κ B etkinliği ve TNF- α üretimini uyarmaktadır (Şekil 2) (36). TLR2'nin inhibitör türlerinin ekspresyonu, makrofajlar tarafından zimosanın tanınması ve fagositozunu inhibe etmemektedir (37).

Dektin-1, daha çok miyeloid hücrelerde eksprese edilen



Şekil 2: Zimosan sinyal ileti yolu. *Bcl-10*, B hücre lenfoması/lösemi 10; *CARD9*, caspase recruitment domain-containing protein 9; *IRAK1*, interlökin reseptörü ile ilişkili kinaz; *MALT1*, Mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfoma translokasyon proteini 1; *MyD88*, Miyeloid farklılaşma faktörü 88; *NF- κ B*, nükleer faktör κ B; *ROS*, reaktif oksijen türleri; *Syk*, dalak tirozin kinazi; *TLR*, *Toll-like reseptör*; *TRAF6*, Tümör nekroze edici faktör reseptörü ile ilişkili faktör 6.



Şekil 3: Dalak tirozin kinazının yapısı. ITAM, immünoresptör tirozin içeren aktivasyon motifi; SH, Src homoloji.

bir kalıp tanıma reseptörü olup, hücre içi sinyal iletimini başlatabilmekte ve sitokin üretimi gibi çeşitli hücrel yanıtla aracılık etmektedir (38). Zimosan, makrofaj ve dendritik hücrelerin sinyal ileti yolunun uyarılması sonucunda dektin-1'e bağlanmakta ve sitokin salıverilmesine neden olmaktadır (39,40). Dektin-1, tip-II-transmembran protein yapısında olup, zimosan parçacığının fagositozundan sorumlu reseptör olarak bilinmektedir (38) Bununla birlikte, dektin-1, C türü lektinlerin amino asit diziliminde, kalsiyuma bağımlı olmayan bir reseptördür (41). Dektin-1 reseptörü, nötrofil ve makrofajlarda yüksek miktarda eksprese edilmesine karşın dendritik hücrelerde, B hücreleri ve bazı T hücrelerinde düşük miktarda eksprese olmaktadır (42,43). Dektin-1, zimosana karşı oluşturulan hücrel yanıtla aracılık etmektedir (38). Hücrel enflamatuvar yanıtın sinyal iletiminde reseptörün sitoplazmik kuyruğuna gerek duyulmaktadır (35,38). Dektin-1'in ITAM (*immunoreceptor tyrosine-based activation motif*) bölgesi TLR2 ve MyD88 ile ortak çalışmaktadır (38). Dektin-1 ekspresyonu, β -glukan içeren parçacık tarafından TLR aracılıklı NF- κ B etkinliğini artırmakta, makrofajlar ve dendritik hücrelerde, dektin-1 ve TLR sinerjistik etki ile IL-12 ve TNF- α gibi sitokinlerin oluşumuna aracılık etmektedir (35,44). Dektin-1, hücre içi fagositoz, oksidatif ürün oluşumu, FLA₂ ve COX-2 etkinleşmesi ile TNF, IL-6 gibi çeşitli sitokinlerin üretimine aracılık etmektedir (45).

Dtk'nin Özellikleri

Protein kinazlar, kendi substrat proteinlerindeki tirozin, serin veya treonin kalıntılarına ATP'den gelen fosfat kalıntılarının transferini katalizleyen enzimlerdir. Tirozin kinazlar, hücre büyümesi, farklılaşması, metabolizma, migrasyon ve apoptozu düzenleyen sinyal ileti yollarının etkinleşmesine

aracılık eden protein kinazlardır (46).

Tirozin kinazlar iki gruptan oluşmaktadır: (1) Reseptör ile kenetli tirozin kinazlar (2) sitoplazmik (reseptörü olmayan) tirozin kinazlar. Reseptör ile kenetli tirozin kinazlar intrinsik tirozin rezidülerinin fosforilasyonuna; sitoplazmik tirozin kinazlar ise farklı yüzey reseptörlerinin sinyal iletimine aracılık ederler (47). Reseptörü olmayan tirozin kinazlar, ABL, ACK, CSK, FAK, FES, FRK, JAK, SRC, TEC ve Dtk gibi 10 alt aileden oluşmaktadır. Dtk ailesi, Dtk ve Zap-70 olmak üzere iki kinaza sahiptir. Dtk, immün ve immün olmayan hücrelerde eksprese edilmekte iken, Zap-70'in ekspresyonu T hücreleri ve doğal öldürücü hücreler ile sınırlıdır (48).

Dtk, 72 kDa molekül ağırlığında olup, reseptör ile kenetli olmayan bir protein tirozin kinazdır. İlk kez timüs ve dalakta keşfedildiği için bu adı almıştır. Dtk ailesinin genel kimyasal yapısına bakıldığında, N-terminalinde birbirine bağlı iki adet Src homoloji 2 (SH2) bölgesi ve bir adet C-terminali kinaz bölgesi bulunmaktadır (Şekil 3). Bu üç alan, *interdomain A* ve *interdomain B* ile birbirlerinden ayrılmakta olup, her bir bölgenin farklı işlevi bulunmaktadır. Dtk ailesinde bulunan SH2 bölgesi T hücreleri, B hücreleri, Fc reseptörleri, makrofajlar ve doğal öldürücü hücre reseptörleri gibi immünoresptörlerin sitoplazmik uzantısı olan ITAM'ye seçici olarak bağlanmakta ve ITAM'yi fosforillemektedir. Bu da çeşitli hücrel yanıtı uyaran kaskatları başlatmaktadır (3,49).

Dtk'nin Ekspresyonu ve Etkinliğinin Düzenlenmesi

Dtk'nin ekspresyonu ilk olarak hematopoetik hücrelerde gösterilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda organizmada daha geniş bir dağılıma sahip olduğu ortaya konulmuştur (Tablo 1) (50). Akciğer, böbrekler ve kardiyomyosit-

Tablo 1: Dtk'nin çeşitli hücre türlerindeki ekspresyonu ve işlevleri

| Hücre Türü | Reseptör | Hastalıklarla İlişkisi | İşlevleri |
|--------------------|--|---|---|
| T Hücreleri | TCR | Otoimmünite | Proliferasyon, farklılaşma, mediyatör saliverilmesi |
| B Hücreleri | BCR | Otoimmünite | Pre-B hücrelerinin gelişmesi ve etkinleşmesi |
| Eritrositler | --- | Otoimmünite | Band 3 protein fosforilasyonu, glikoliz, membran transportu, hücre biçimi |
| Nötrofiller | FcγR1; FcγR2; FcεR1 FcγR3; İntegrin | Enflamasyon, otoimmünite | NO saliverilmesi, ROT, fagositoz |
| Bazofiller | FcεR1 | Alerji | Degranülasyon |
| Eozinofiller | FcγR; FcεR | Alerji | Degranülasyon, ROT |
| Makrofajlar | FcγR1; FcγR2; FcεR1 FcγR3; İntegrin | Enflamasyon, alerji, otoimmünite | NO saliverilmesi, ROT, fagositoz |
| Mast hücreleri | FcεR1 | Alerji, otoimmünite | Degranülasyon, sitokin üretimi, AA metabolizması |
| Dendritik hücreler | FCRs | Otoimmünite | Antijen internalizasyonu, hücre olgunlaşması, IL-12 saliverilmesi |
| Osteoklastlar | RANK | Kemik rezorpsiyonu | Osteoklast oluşumu |
| Trombositler | GpVI; Gplb-IX-V; CLEC-2; avb3 | --- | Agregasyon, AA metabolitleri ile serotonin saliverilmesi |
| Fibroblastlar | | | Adipositlerin farklılaşması, adipojeniz (3T3-L1 hücreleri), insan nazal poliplerde kemokin üretimi |
| Hepatositler | AT1, AT2 | Viral hepatitle oluşturulan karsinojeniz | ERK etkinleşmesi Anjiyotensin sinyalleme yolu; Dtk-eksik karaciğerde normal olmayan birikme |
| Düz kas hücreleri | AT1, AT2 | Hipertansiyon, damar zedelenmesi | Protein sentezi, hücre migrasyonu |
| Endotel hücreler | | Hipertansiyon, damar zedelenmesi | Hücre büyümesi ve migrasyonu, sağkalım, kan damarlarından lenfatik damarların ayrılması, Dtk-eksik farelerde morfolojik zedelenmeler, Dtk'nin dominant negatif mutantlarının aşırı ekspresyonu aracılığıyla HUVEC'lerin bozulmuş göçü ve proliferasyonu. |
| Nöronal | | | Nöronal farklılaşma, Dtk'nin aşırı eksprese edildiği nöronal olarak farklılaşmış P19 hücrelerinde fazla miktarda nörit oluşumu. |
| Sinoviyositler | TNF-R | Romatoit artrit | TNF-α ile oluşturulan IL-32 saliverilmesi, metalloproteaz 3 gen ekspresyonu, matriks degradasyonu, sinoviyal sıvı düzenlenmesi |
| Epitel hücreler | | Tümör ilerlemesi | Hücre bölünmesinin kontrolü, meme kanseri gelişmesi ve ilerlemesi |

AA; Araşidonik asid, AT; anjiyotensin II reseptörü, avb; vitronektin reseptörü, BCR; B hücreli antijen reseptörü, CLEC; C-tipi lektin-benzeri reseptör, FcγR; Fcγ reseptörleri, Gp; glikoprotein, HUVEC; İnsan umbilikal damar endotel hücresi, IL; interleukin, NO; nitrik oksit, RANK; NFκB'nin aktivatör reseptörü, ROT; reaktif oksijen türleri, TCR; T hücreli antijen reseptörü, TNF; tümör nekroze edici faktör.

ler gibi çeşitli dokuların epitel hücrelerinde de varlığı gösterilmiştir (51). Dtk, morfogenez, hücre büyümesi, migrasyon ve yaşamda kalma gibi endotel hücrelerin işlevlerinde kritik bir rol oynamakta ve *in vivo* koşullarda damar bütünlüğünün sürdürülmesine katkıda bulunmaktadır (4,5).

Dtk, reseptörlerin sitoplazmik uzantısı olan ITAM'ye bağlanmaktadır. Bu motif, FcγR, yüksek afiniteli IgE reseptörü (FcεR), Igα (B hücreler), CD3ζ (T hücreler) ve integrinlerin sitoplazmik bölgelerine yerleşmiştir. Bu reseptörleri bağlayan immün kompleksler veya antijenler, Dtk'yi etkin-

leştiren ITAM'leri fosforile etmektedir. Etkinleşen Dtk, MAPK, fosfoinozitol-3-kinaz (*phosphoinositide-3-kinase*; PI3K) ve fosfolipaz C (*phospholipase C*, PLC) gibi çoklu sinyal ileti yolları aracılığı ile enflamasyonu düzenlemektedir (52). IgE reseptörü aracılığıyla antijen tarafından uyarılan mast hücrelerinde Dtk, sitoplazmik FLA₂'nin etkinleşmesi için gereklidir (53). Miyeloit hücreler ile T ve epitel hücrelerinde proapoptotik ve enflamatuvar sitokin olan TNF- α , Dtk ile etkinleşmektedir. Dtk'nin TNF- α ile ilişkisi, MAPK ile NF- κ B etkinleşmesine ve sonuçta apoptoza yol açmaktadır. Dtk, oksitleyici koşullar altında tirozin fosforilasyonu sonucunda etkinleşmekte ve hidrojen peroksit ile oluşturulan NF- κ B etkinliğine katılmaktadır. I κ B- α 'nın Dtk aracılığı tirozin fosforilasyonu sonucunda NF- κ B etkinliği artmaktadır. B hücrelerde oksidatif stres ile indüklenen hücresel yanıtlar, hidrojen peroksit yoğunluğuna göre, nekroz, apoptoz ve mitotik blokaj gibi farklı örnekleri ilerletmektedir. Proapoptotik ve yaşamda kalma yolları arasındaki denge, oksidatif strese maruz kalan bir hücrenin durumunu belirlemektedir (4).

Dtk'nin Patolojik Olaylardaki Rolü

Dtk ekspresyonunun düzenlenmesi, astım gibi solunum yolu hastalıklarının tedavi stratejilerinden birisi olarak görülmektedir. Dtk, anjiyogenez süresince damar endotel hücrelerinin morfogenezinin kontrolünde rol oynamakta, bu nedenle anjiyogenezin inhibisyonu için güçlü bir hedef olarak gösterilmektedir. Coopman ve ark. (4) Dtk'yi epitel hücre büyümesinin güçlü bir düzenleyicisi ve insan meme kanserinde güçlü bir tümör baskılayıcısı olarak göstermişlerdir.

Dtk, konaktaki B hücreler, mast hücreler, makrofaj ve nötrofiller gibi enflamatuvar hücrelerde immünoresptör sinyal iletiminin anahtar mediyatörü olduğundan birçok hastalık için tedavide hedef olarak görülmektedir. Fc reseptörleri ve B hücre reseptörleri içeren bu immünoresptörler, alerjik ve antikor aracılıklı otoimmün hastalıklar için önemli olduğundan Dtk'yi inhibe etmek, bu hastalıkların tedavisinde anlamlı bir yaklaşım olabilmektedir. Pek çok çalışmada lenfoma, lösemi, işlevsel gastrointestinal bozukluk, idiyopatik trombositopenik purpura, sistemik lupus eritematöz ve anafaktik şok gibi hastalıkların patojenezinde kilit rol oynayan Dtk'nin rolü vurgulanmaktadır. Bu hastalıkların yanı sıra romatoid artrit, astım ve alerjik rinit gibi enflamatuvar hastalıkların patojenezinde de Dtk'nin rolü büyüktür (3).

Dtk'nin İnhibitörleri

Dtk inhibitörlerinin önemi özellikle enflamatuvar ve otoimmün hastalıkların tedavisinde artmaya başlamıştır (54).

Fostamatinib, *in vivo* ve *in vitro* koşullarda antitümör etkinliğe sahip, ATP ile yarışarak etki gösteren oral bir Dtk inhibitörüdür (55). Kemirgenlerde kolajenle oluşturulan artrit modellerinde kullanılan Dtk inhibitörü R788 (fostamatinib disodium), hızlı bir biçimde daha seçici inhibitör olan R406'ya dönüşerek etkisini gösteren bir ön ilaç olup, romatoid artrit tedavisinde güçlü antienflamatuvar etkinliği gösterilmiştir (56).

Klinik öncesi çalışmalarda R406, immünooglobulinlerin yüksek düzeylerde eksprese edildiği *diffuse large B cell lymphoma* (DLBCL) hücre dizisinin proliferasyonunu inhibe etmekte ve apoptoza neden olmaktadır (55). Öte yandan, ters etki olarak diyare, hipertansiyon ve nötropeni gözlemlenmiştir (57).

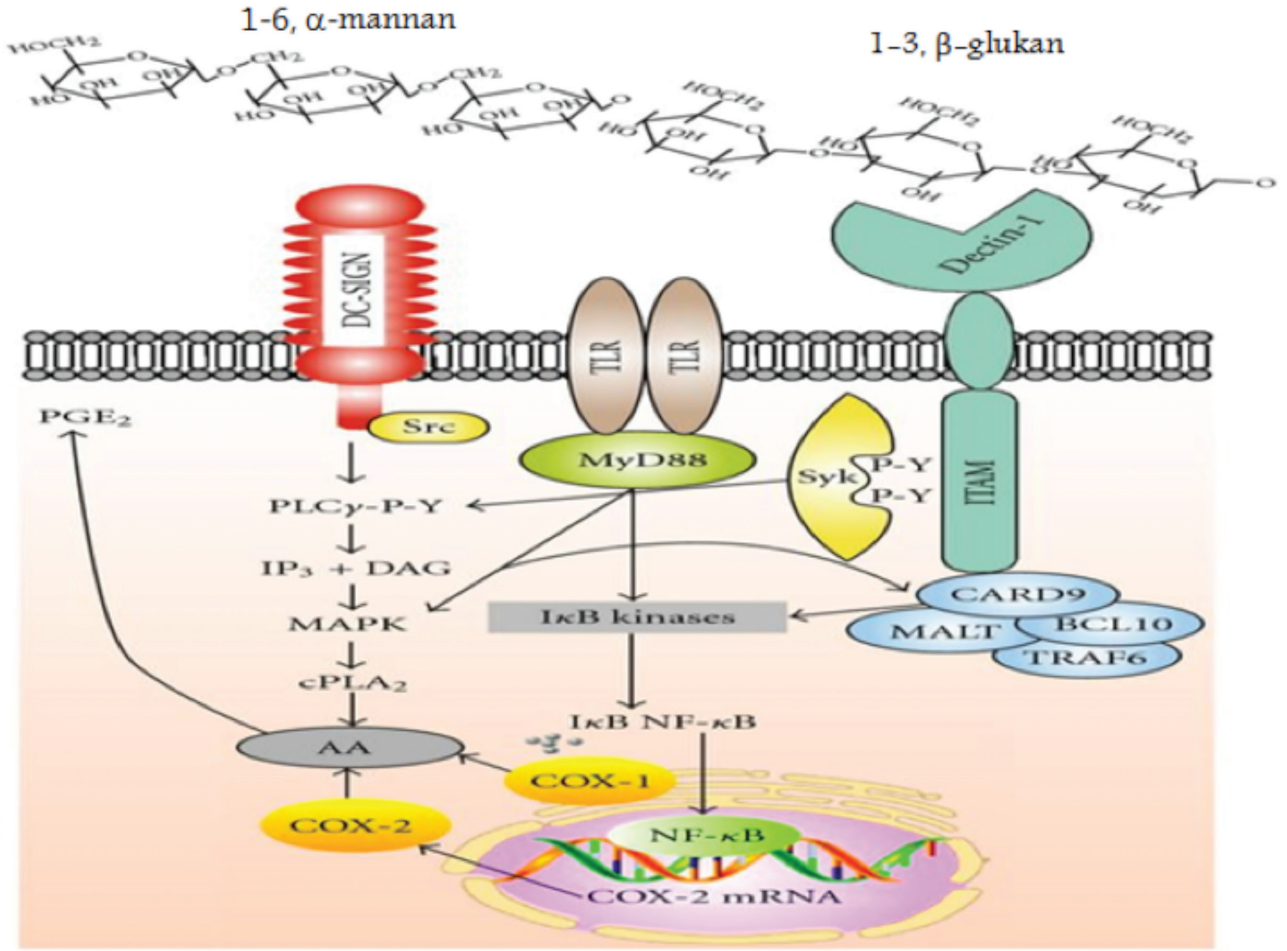
R112, topikal intranazal özellikte, dayanıklı süspansiyon olarak formüle edilmiş bir Dtk inhibitörüdür. R112, çoklu doz güvenlik testlerinden geçtikten sonra, 319 mevsimsel alerjik rinit hastalarında 2 gün çift kör plasebo-kontrollü klinik çalışmaları yapılmıştır. R112, tüm klinik semptomlarda önemli bir azalma sağlamış olup, alerjik rinitin akut semptomlarının düzeltilmesinde Dtk inhibisyonunun klinik önemini ortaya koymuştur (58).

BAY 61-3606, imidazopirimidin analoglarının bir dizisinden elde edilmiş olup, Dtk'yi derişime bağımlı olarak ve yüksek seçicilikte inhibe etmektedir. BAY 61-3606'nın çeşitli enzimler üzerindeki seçiciliği Tablo 2'de özetlenmiştir (59). BAY 61-3606'nın, sıçanlarda Dtk/I κ B- α /NF- κ B yolunun etkinliğini inhibe ederek proenflamatuvar moleküllerin oluşumunu önlediği ve zimosan ile oluşturulan hipotansiyonu geri çevirdiği gösterilmiştir (60,61).

Tablo 2: Dtk inhibitörü BAY 61-3606'nın çeşitli enzimler üzerindeki seçiciliği

| Enzimler | Ki (nM) |
|----------|---------------|
| Dtk | 7.5 \pm 2.5 |
| Lyn | >5.400 |
| Fyn | >12.500 |
| Src | >6.250 |
| Itk | >4.700 |
| Btk | >5.000 |

Btk; bruton tirozin kinaz, Dtk; dalak tirozin kinazi, Itk; interlökin 2-indüklenebilir T hücre kinaz, Src; Proto-onkogen tirozin-protein kinaz



Şekil 4: Zimosan sinyal iletiinde Dtk'nin rolü. AA, araşidonic asit; Bcl-10, B hücre lenfoması/lösemi 10; CARD9, caspase recruitment domain-containing protein 9; COX, siklooksijenaz; cPLA₂, sitozolik fosfolipaz A₂; DAG, diaçilgliserol; IκB, κB inhibitörü; ITAM, immünoresptör tirozin içerikli etkinleştirici motif; NF-κB, nükleer faktör κB; TLR, Toll-like reseptör; PGE₂, prostaglandin E₂; PLC, fosfolipaz C; IP₃, inozitol-1,4,5-trifosfat; MALT, Mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfoma translokasyon proteini 1; MAPK, Mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz; MyD88, Miyeloid farklılaşma faktörü 88; Syk, dalak tirozin kinaz; TRAF6, Tümör nekroze edici faktör reseptörü ile ilişkili faktör 6.

Zimosan Sinyal İletisinde Dtk'nin Rolü

Çeşitli fungal türlerin hücre duvarı bileşeni olan β-glukan yapısını tanıyan dektin-1 reseptörü sitoplazmik ITAM-benzeri motif aracılığıyla hücre içi sinyal ileti yollarını tetiklemektedir (Şekil 4) (62). Downstream sinyal ileti yollarında MAPK'nin etkinleşmesinin yanı sıra, Dtk ile birlikte NF-κB etkinleşmesi gibi doğal immün yanıtlar uyarılmaktadır (63-65). Doğal immün yanıtlara ek olarak Th1, Th17 ve sitotoksik T hücre yanıtını içeren adaptif immün sistemi de tetiklemektedir (66).

Dektin-1 reseptörleri aracılığıyla başlayan sinyal ileti yollarında tirozin fosforilasyonu önemli rol oynamaktadır (67). Dtk'nin, MAPK'nin etkinleşmesini de içeren çeşitli downstream olaylarda kritik öneme sahip olduğu bulunmuştur. COX-2 indüksiyonu ve AA saliverilmesinde Dtk'nin yer aldığı ilk kez Suram ve ark. tarafından gösterilmiştir (68). Dtk etkinliğinin bir göstergesi olarak tirozin fosforilasyonunun Dtk inhibitörleri tarafından inhibisyonu insan dendritik hücrelerinde ele alınmıştır. Zimosan, Dtk'nin otofosforilasyonunu artırmakta, Dtk inhibitörleri zimosan ile uyarılan AA saliverilmesini anlamlı olarak azaltmaktadır (68).

KAYNAKLAR

- Pillemer L, EE Ecker. Anticomplementary factor in fresh yeast. *J Biol Chem.* 1941;137:139-142.
- Suram S, Brown GD, Ghosh M, Gordon S, Loper R, Taylor PR, Akira S, Uematsu S, Williams DL, Leslie CC. Regulation of cytosolic phospholipase A2 activation and cyclooxygenase 2 expression in macrophages by the beta-glucan receptor. *J Biol Chem.* 2006;281:5506-5514.
- Riccaboni M, Bianchi I, Petrillo P. Spleen tyrosine kinases: biology, therapeutic targets and drugs. *Drug Discov Today.* 2010;15:517-530.
- Coopman PJ, Mueller SC. The Syk tyrosine kinase: a new negative regulator in tumor growth and progression. *Cancer Lett.* 2006;241:159-173.
- Tohyama Y, Yamamura H. Protein tyrosine kinase, syk: a key player in phagocytic cells. *J Biochem.* 2009;145:267-273.
- Di Carlo FJ, Fiore JV. On the composition of zymosan. *Science.* 1958;127:756-757.
- Smits GJ, Kapteyn JC, Van den Ende H, Klis FM. Cell wall dynamics in yeast. *Curr Opin Microbiol* 1999;2:348-352.
- Underhill DM, Ozinsky A. Phagocytosis of microbes: complexity in action. *Annu Rev Immunol.* 2002;20:825-852.
- Vecchiarelli A, Puliti M, Torosantucci A, Cassone A, Bistoni F. In vitro production of tumor necrosis factor by murine splenic macrophages stimulated with mannoprotein constituents of *Candida albicans* cell wall. *Cell Immunol.* 1991;134:65-76.
- Underhill DM. Macrophage recognition of zymosan particles. *J Endotoxin Res.* 2003;9:176-180.
- Cuzzocrea S, Di Paola R, Mazzone E, Patel NS, Genovese T, Muià C, Crisafulli C, Caputi AP, Thiemermann C. Erythropoietin reduces the development of nonseptic shock induced by zymosan in mice. *Crit Care Med.* 2006;34:1168-1177.
- Pan Q, Liu Y, Zheng J, Lu X, Wu S, Zhu P, Fu N. Protective effect of chloral hydrate against lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute lethal liver injury and zymosan-induced peritonitis in mice. *Int Immunopharmacol.* 2010;10:967-977.
- da S Rocha JC, Peixoto ME, Jancar S, de Q Cunha F, de A Ribeiro R, da Rocha FA. Dual effect of nitric oxide in articular inflammatory pain in zymosan-induced arthritis in rats. *Br J Pharmacol.* 2002;136:588-596.
- Jansen MJ, Hendriks T, Huyben CM, Tax WJ, van der Meer JW, Goris RJ. Increasing cytotoxic activity and production of reactive oxygen and nitrogen intermediates by peritoneal macrophages during the development of multiple organ dysfunction syndrome in mice. *Scan J Immunol.* 1996;44:361-368.
- Jain NK, Ishikawa TO, Spigelman I, Herschman HR COX-2 expression and function in the hyperalgesic response to paw inflammation in mice. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2008;79:183-190.
- Schorlemmer HU, Bitter-Suermann D, Allison AC. Complement activation by the alternative pathway and macrophage enzyme secretion in the pathogenesis of chronic inflammation. *Immunology.* 1977;32:929-940.
- Kelly MM, McNagny K, Williams DL, van Rooijen N, Maxwell L, Gwozd C, Mody CH, Kubes P. The lung responds to zymosan in a unique manner independent of toll-like receptors, complement, and dectin-1. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2008;38:227-238.
- Doherty NS, Poubelle P, Borgeat P, Beaver TH, Westrich GL, Schrader NL. Intraperitoneal injection of zymosan in mice induces pain, inflammation and the synthesis of peptidoleukotrienes and prostaglandin. *Prostaglandins.* 1985;30:769-789.
- Hassa PO, Hottiger MO. The functional role of poly(ADP-ribose) polymerase 1 as novel coactivator of NF-kappaB in inflammatory disorders. *Cell Mol Life Sci.* 2002;59:1534-1553.
- Underhill DM, Ozinsky A, Hajjar AM, Stevens A, Wilson CB, Bassetti M, Aderem A. The Toll-like receptor 2 is recruited to macrophage phagosomes and discriminates between pathogens. *Nature.* 1999;401:811-815.
- Beutler B, Hoebe K, Du X, Ulevitch RJ. How we detect microbes and respond to them: the Toll-like receptors and their transducers. *J Leukoc Biol.* 2003;74: 479-485.
- Senftleben U. NF-kappaB in critical diseases: a bad guy? *Intensive Care Med.* 2003;29:1873-1876.
- Battle J, Ha T, Li C, Della Beffa V, Rice P, Kalbfleisch J, Browder W, Williams D. Ligand binding to the (1 -> 3)-beta-D-glucan receptor stimulates NFkappaB activation, but not apoptosis in U937 cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;249:499-504.
- Cuzzocrea S, Zingarelli B, Sautebin L, Rizzo A, Crisafulli C, Campo GM, Costantino G, Calapai G, Nava F, Di Rosa M, Caputi AP. Multiple organ failure following zymosan-induced peritonitis is mediated by nitric oxide. *Shock.* 1997;8:268-275.
- Jansen MJ, Hendriks T, Vogels MT, van der Meer JW, Goris RJ. Inflammatory cytokines in an experimental model for the multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med.* 1996;24:1196-1202.
- Qiu ZH, de Carvalho MS, Leslie CC. Regulation of phospholipase A2 activation by phosphorylation in mouse peritoneal macrophages. *J Biol Chem.* 1993;268:24506-24513.
- Qiu ZH, Gijón MA, de Carvalho MS, Spencer DM, Leslie CC. The role of calcium and phosphorylation of cytosolic phospholipase A2 in regulating arachidonic acid release in macrophages. *J Biol Chem.* 1998;273:8203-8211.
- Lundy SR, Dowling RL, Stevens TM, Kerr JS, Mackin WM, Gans KR. Kinetics of phospholipase A2, arachidonic acid, and eicosanoid appearance in mouse zymosan peritonitis. *J Immunol.* 1990;144:2671-2677.
- Humes JL, Sadowski S, Galavage M, Goldenberg M, Subers E, Bonney RJ, Kuehl FA Jr. Evidence for two sources of arachidonic acid for oxidative metabolism by mouse peritoneal macrophages. *J Biol Chem.* 1982;257: 1591-1594.
- Wightman PD, Dahlgren ME, Davies P, Bonney RJ. The selective release of phospholipase A2 by resident mouse peritoneal macrophages. *Biochem J.* 1981;200:441-444.

31. Fearon DT, Austen KF. Activation of the alternative complement pathway due to resistance of zymosan-bound amplification convertase to endogenous regulatory mechanisms. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1977;74:1683-1687.
32. Song WC. Crosstalk between Complement and Toll-Like Receptors. *Toxicol Pathol*. 2012;40:174-182.
33. Mikrobiyoloji.org [Internet]. Doğal Direnç. [erişim tarihi; 20 Nisan 2014]. Available from: <http://www.mikrobiyoloji.org/>.
34. Keystone EC, Schorlemmer HU, Pope C, Allison AC. Zymosan-induced arthritis: a model of chronic proliferative arthritis following activation of the alternative pathway of complement. *Arthritis Rheum*. 1977;20:1396-1401.
35. Gantner BN, Simmons RM, Canavera SJ, Akira S, Underhill DM. Collaborative induction of inflammatory responses by dectin-1 and Toll-like receptor 2. *J Exp Med*. 2003;197:1107-1117.
36. Sato M, Sano H, Iwaki D, Kudo K, Konishi M, Takahashi H, Takahashi T, Imaizumi H, Asai Y, Kuroki Y. Direct binding of Toll-like receptor 2 to zymosan, and zymosan-induced NF-kappa B activation and TNF-alpha secretion are down-regulated by lung collectin surfactant protein A. *J Immunol*. 2003;171:417-425.
37. Thobe BM, Frink M, Hildebrand F, Schwacha MG, Hubbard WJ, Choudhry MA, Chaudry IH. The role of MAPK in Kupffer cell toll-like receptor (TLR) 2-, TLR4-, and TLR9-mediated signaling following trauma-hemorrhage. *J Cell Physiol*. 2007;210:667-675.
38. Reid DM, Gow NA, Brown GD. Pattern recognition: recent insights from Dectin-1. *Curr Opin Immunol*. 2009;21:30-37.
39. Brown GD, Taylor PR, Reid DM, Willment JA, Williams DL, Martinez-Pomares L, Wong SY, Gordon S. Dectin-1 is a major beta-glucan receptor on macrophages. *J Exp Med*. 2002;196:407-412.
40. Slack EC, Robinson MJ, Hernanz-Falcón P, Brown GD, Williams DL, Schweighoffer E, Tybulewicz VL, Reis e Sousa C. Syk-dependent ERK activation regulates IL-2 and IL-10 production by DC stimulated with zymosan. *Eur J Immunol*. 2007;37:1600-1612.
41. Ariizumi K, Shen GL, Shikano S, Xu S, Ritter R 3rd, Kumamoto T, Edelbaum D, Morita A, Bergstresser PR, Takashima A. Identification of a novel, dendritic cell-associated molecule, dectin-1, by subtractive cDNA cloning. *J Biol Chem*. 2000;275:20157-20167.
42. Willment JA, Marshall AS, Reid DM, Williams DL, Wong SY, Gordon S, Brown GD. The human beta-glucan receptor is widely expressed and functionally equivalent to murine Dectin-1 on primary cells. *Eur J Immunol*. 2005;35:1539-1547.
43. Chung HC, Huang TC, Yu JH, Wu ML, Chung WB. Immunomodulatory effects of beta-glucans on porcine alveolar macrophages and bone marrow haematopoietic cell-derived dendritic cells. *Vet Immunol Immunopathol*. 2009;131:147-157.
44. Underhill DM, Rosnagle E, Lowell CA, Simmons RM. Dectin-1 activates Syk tyrosine kinase in a dynamic subset of macrophages for reactive oxygen production. *Blood*. 2005;106:2543-2550.
45. Gazi U, Rosas M, Singh S, Heinsbroek S, Haq I, Johnson S, Brown GD, Williams DL, Taylor PR, Martinez-Pomares L. Fungal recognition enhances mannose receptor shedding through dectin-1 engagement. *J Biol Chem*. 2011;286:7822-7829.
46. Cheng H, Force T. Why do kinase inhibitors cause cardiotoxicity and what can be done about it? *Prog Cardiovasc Dis*. 2010;53:114-120.
47. Waldburger JM, Firestein GS. Garden of therapeutic delights: new targets in rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther*. 2009;11:206.
48. Bradshaw JM. The Src, Syk, and Tec family kinases: distinct types of molecular switches. *Cell Signal*. 2010;22:1175-1184.
49. Sada K, Takano T, Yanagi S, Yamamura H. Structure and function of Syk protein-tyrosine kinase. *J Biochem*. 2001;130:177-186.
50. Yanagi S, Inatome R, Takano T, Yamamura H. Syk expression and novel function in a wide variety of tissues. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;288:495-498.
51. Flück M, Zürcher G, Andres AC, Ziemiecki A. Molecular characterization of the murine syk protein tyrosine kinase cDNA, transcripts and protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995;213:273-281.
52. Hammaker D, Firestein GS. "Go upstream, young man": lessons learned from the p38 saga. *Ann Rheum Dis*. 2010;69:77-82.
53. Hirasawa N, Scharenberg A, Yamamura H, Beaven MA, Kinet JP. A requirement for Syk in the activation of the microtubule-associated protein kinase/phospholipase A2 pathway by Fc epsilon R1 is not shared by a G protein-coupled receptor. *J Biol Chem*. 1995;270:10960-10967.
54. Pamuk ON, Tsokos GC. Spleen tyrosine kinase inhibition in the treatment of autoimmune, allergic and autoinflammatory diseases. *Arthritis Res Ther*. 2010;12:222.
55. Chen L, Monti S, Juszczynski P, Daley J, Chen W, Witzig TE, Habermann TM, Kutok JL, Shipp MA. SYK-dependent tonic B-cell receptor signaling is a rational treatment target in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2008;111:2230-2237.
56. Braselmann S, Taylor V, Zhao H, Wang S, Sylvain C, Baluom M, Qu K, Herlaar E, Lau A, Young C, Wong BR, Lovell S, Sun T, Park G, Argade A, Jurcevic S, Pine P, Singh R, Grossbard EB, Payan DG, Masuda ES. R406, an orally available spleen tyrosine kinase inhibitor blocks fc receptor signaling and reduces immune complex-mediated inflammation. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006;319:998-1008.
57. Weinblatt ME, Kavanaugh A, Genovese MC, Musser TK, Grossbard EB, Magilav DB. An oral spleen tyrosine kinase (Syk) inhibitor for rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 2010;363:1303-1312.
58. Meltzer EO, Berkowitz RB, Grossbard EB. An intranasal Syk-kinase inhibitor (R112) improves the symptoms of seasonal allergic rhinitis in a park environment. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115:791-796.
59. Yamamoto N, Takeshita K, Shichijo M, Kokubo T, Sato M, Nakashima K, Ishimori M, Nagai H, Li YF, Yura T, Bacon KB. The orally available spleen tyrosine kinase inhibitor 2-[7-(3,4-dimethoxyphenyl)-imidazo[1,2-c]pyrimidin-5-ylamino]nicotinamide dihydrochloride (BAY 61-3606) blocks antigen-induced airway inflammation in rodents. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;306:1174-1181.
60. Ünsal D. Siçanlarda Zimosan ile Oluşan Hipotansiyona Dalak Tirozin Kinazının Katkısının Araştırılması. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi; 2013.
61. Ünsal D, Kaçan M, Temiz M, Korkmaz B, Sarı A N, Buharalıoğlu CK, Yıldırım Yaroğlu H, Tamer L, Tunçtan B, Şahan Fırat S. Siçanlarda zimosanın neden olduğu enflamasyon ve hipotansiyona dalak tirozin kinazının katkısı. 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Antalya, 4-7 Kasım, Özet Kitabı, s. 293, Bildiri No: P-116 (2013).

62. Reid DM. Pattern recognition: recent insights from Dectin-1. *Curr Opin Immunol.* 2009;21: 30-37.
63. Gross O. Card9 controls a non-TLR signalling pathway for innate anti-fungal immunity. *Nature.* 2006;442: 651-656.
64. Goodridge HS. Dectin-1 stimulation by *Candida albicans* yeast or zymosan triggers NFAT activation in macrophages and dendritic cells. *J Immunol.* 2007;178: 3107-3115.
65. LeibundGut-Landmann S. Syk- and CARD9-dependent coupling of innate immunity to the induction of T helper cells that produce interleukin 17. *Nat Immunol.* 2007;8: 630-638.
66. Kerrigan AM, Brown GD. Syk-coupled C-type lectin receptors that mediate cellular activation via single tyrosine based activation motifs. *Immunol Rev.* 2010;234: 335-352.
67. Rogers NC, Slack EC, Edwards AD. Syk dependent cytokine induction by dectin-1 reveals a novel pattern recognition pathway for C type lectins. *Immunity.* 2005;22: 507-517.
68. Suram S, Brown GD, Ghosh M. Regulation of cytosolic phospholipase A2 activation and cyclooxygenase 2 expression in macrophages by the β -glucan receptor. *J Biol Chem.* 2006;281: 5506-5514.