

HÜCRE SIKLUSU VE APOPTOZ CELL CYCLE AND APOPTOSIS

Filiz Canpolat

Doç. Dr. Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Kliniği
Yazışma Adresi: Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar
Kliniği, Ankara.
e-posta: filizcanpolat@hotmail.com
Çıkar çatışması: Bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

ABSTRACT

The process of apoptosis or programmed cell death, is typically characterized by distinct morphological characteristics and energy-dependent biochemical mechanisms. Apoptosis is considered a vital component of various processes including normal cell turnover, development of organism and functioning of the immune system, embryonic development and chemically induced cell death. Inappropriate apoptosis is a factor in many human conditions including neurodegenerative diseases, ischemic damage, autoimmune disorders and most types of cancer. Therefore, research continues to focus on the elucidation and analysis of the cell cycle and signaling pathways that control cell cycle arrest and apoptosis. The aim of this review is to provide a general overview of current knowledge on the cell cycle and the process of apoptosis including morphology, biochemistry, the role of apoptosis in health and disease as well as normal cell cycle.

Key words: Cell cycle, apoptosis, programmed cell death

ÖZET

Apoptoz ya da programlanmış hücre ölümü, tipik olarak belirgin morfolojik özellikleri olan, enerji bağımlı kendine ait biyokimyasal mekanizmalar ile karakterize bir olaydır. Apoptoz, normal hücre yenilenmesi, organizmanın gelişimi ve bağışıklık sisteminin işleyişi, embriyo gelişimi ve kimyasal kaynaklı hücre ölümü de dahil olmak üzere çeşitli süreçlerin önemli bir bileşeni olarak kabul edilir. Uygunsuz apoptoz, yani -apoptozun aşırı ya da gereğinden az oluşu-nörodejeneratif hastalıklar, iskemik hasar, otoimmün hastalıklar ve kanser türlerinin çoğu dahil olmak üzere birçok hastalığın oluşumunda rol oynayan bir faktördür. Bu nedenle hücre siklus ve apoptozun kontrolü ile ilgili sinyal yollarının araştırılması devam etmektedir. Bu derlemenin amacı, mevcut hücre siklusu hakkında bilgi sağlamak, konunun morfolojisine, biyokimyasına bir göz atmak, apoptozun fizyolojik olaylar ve bazı hastalıklardaki rolüne genel bir bakış sağlamaktır.

Anahtar Sözcükler: Hücre siklusu, apoptoz, programlı hücre ölümü

GİRİŞ

Hücre siklusu, bir hücrenin bölünmeye başlamasından itibaren onu takip eden diğer hücre bölünmesine kadar geçen zamanda, hücrede gerçekleşen geçici biyokimyasal aktivitelerin ve morfolojik değişikliklerin görüldüğü süreçtir. Genetik olarak birbirine tıpa tıp benzeyen iki hücre oluşumu ile sonuçlanan olaylar zinciridir.¹

Apoptoz, yaşlı veya istenmeyen hücrelerin otonom olarak kendi kendini öldürdükleri fizyolojik bir olaydır. Programlı hücre ölümü olarak da bilinen apoptoz, terim olarak ilk kez 1972 yılında Avustralyalı bir patolog olan J.F. Kerr tarafından mitozun karşıt anlamı olarak kullanılmıştır. İnsan vücudunda hergün yaklaşık 10 milyar hücre yapılıırken, hücre sayısının dengede tutulması için apoptoz ile hücre ölümü gerçekleşmektedir.^{2,3}

Hücre bölünmesiyle artan hücre sayısı hücre ölümleriyle dengelenmeye çalışılmaktadır. Apoptoz ve mitoz, organizmanın homeostazını sağlayabilmek için dinamik bir denge içindedir. Hücre büyümesi ve hücre ölümü arasındaki dengenin bozulması malign çoğalmaya neden olabilir. Hücre siklusunun ve apoptozun düzenlenmesindeki hatalar, hücre siklusunun kontrolünün bozulmasına ve kanser gelişimine yol açar. Apoptoz, embriyonun gelişimi, doku homeostazı ve bağışıklık sistemi gibi fizyolojik durumlarda yer aldığı gibi kötü regülasyonu da bazı hastalıklara neden olabilmektedir.⁴⁻⁶ Bu derleme hücre siklus, apoptoz ve bunların kontrol mekanizmaları ile birlikte bazı hastalıkların oluş mekanizmalarıyla ilişkisine göz atmayı hedeflemiştir.

Hücre siklusu

Hücre bölünme siklusu mitoz (M) ve interfaz (G1, S, G2) olmak üzere iki temel bölüme ayrılır. Genel olarak hücreler bir

bölünme sinyali almadıkları sürece hücre siklusunun istirahat fazı olan G0 (Gap) fazında beklerler. Hücreler bölünmek üzere sinyal aldığında mitoz girmeden önce bir hazırlık dönemine girerler ve bu dönemde hücreler hacimce büyürler. Bu, bölünmeye hazırlık dönemine interfaz denir. İnterfaz kendi içinde G1, S, G2 olmak üzere 3 evreden oluşur. G1 evresinde ATP sentezi hızlanır, organel sayısı artar ve metabolizma en yüksek seviyeye çıkar. RNA ve protein sentezlenir. Hücreyi bölünmeye iten proteinler (büyüme faktörleri) aktive olur. Büyüme için şartlar uygunsa sentez evresine geçilir değilse, siklus geciktirilir ve hücre G0' a girer. S (Sentez) evresinde RNA sentezi G1'deki gibi devam eder. Protein sentezi en yüksek düzeye çıkar. DNA sentezi başlar ve DNA iki katına çıkar. Sentrozom kendini eşlemeye başlar. G2 evresinde DNA sentezi durur, RNA ve protein sentezi devam eder. Sentrozom duplikasyonu tamamlanır. M (Mitoz) bölünme evresinde sentrozom duplike olur. Yavru kromozomlar meydana gelir. Profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evreleri vardır. Telofazda sitoplazmik bölünme tamamlanır ve aynı genetik materyalli iki yeni hücre meydana gelir. Toplam hücre siklusu 24 saat olan ve hızlı çoğalan bir insan hücresi için sırasıyla G1 evresi 11 saat, S evresi 8 saat, G2 evresi 4 saat ve M evresi bir saat sürer.⁷⁻¹⁰

Hücre siklusunun kontrolü

Hücre bölünmesi çeşitli nedenlerle kontrol edilmezse hücreler kontrolsüz olarak bölünüp çoğalmaya başlar ve tümör gelişimine neden olurlar. Bu yüzden hücre siklusundaki evrelerin bölünmesini denetleyen kontrol noktaları vardır. Hücre siklusu siklinler (cyc), siklin bağımlı kinazlar (CDK) ve siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CKI) tarafından kontrol edilir. Kontrol noktaları G1- S geçişinde, G2-M geçişinde ve metafaz-anafaz geçişinde yer

alır. Bu kontrol noktalarında hücrenin siklusa devam edip etmeyeceğine karar verilir. G1 kontrol noktasında hücre yeterli büyüklüğe ulaşmışsa ve DNA hasar görmemişse bölünme olur. G2 kontrol noktasında hücrenin büyüklüğü ve DNA hasarı kontrol edilirken, M kontrol noktasında ise kromozomların iç ipliklerine bağlanması kontrol edilir.^{10,11}

Hücre siklusunun kontrolünde görev aldığı bilinen siklin bağımlı kinazlar, CDK1 -11 ve siklinler, siklin A-D'dir. Siklinler siklusun belirli evrelerinde sentez edilirler. G1 evresi başlangıcında siklin D seviyesi artarken; siklin E, geç G2 ve S evresinde; siklin A, S fazının başlangıcından G2 fazının sonuna kadar ve siklin B, G2-M fazında rol alır. Görevleri CDK'ları aktive etmektir. CDK'lar hedef proteinleri fosforile ederek, siklusun devamını sağlarlar. Hücre siklusunun her evresinde sentez edilir ancak inaktif formları siklin adındaki protein ailesine bağlanarak fosforile olur ve aktifleştirilirler. Herhangi bir siklinle birleşerek kompleks oluşturmayan CDK'lar hiçbir etki göstermezler. Her bir CDK farklı bir siklinle kompleks oluşturur ve oluşturulan kompleksteki siklinin tipi hangi proteinlerin fosforile edileceğini belirler.^{12,13} Siklin D ile kompleks yapan CDK4 veya CDK6 ve siklin E ile birleşmiş olan CDK2, G1 fazının ilerlemesini kontrol eder. CKI'ların görevi ise siklin ve CDK'ların yaptığı kompleksleri sıkı bir şekilde denetlemektir ve tümör süpresör fonksiyonu görürler. Cip/Kip ailesi ve INK4/ARF olmak üzere iki sınıf CKI bulunur. Cip/Kip ailesi üyeleri CDK2'nin siklin A ve E ile yaptığı kompleksleri baskımlarken, CDK2 ve 6'nın siklin D ile yaptığı kompleksleri aktive eder. Yani Cip/Kip ailesi hücre siklusunun farklı evrelerinde hem aktivatör hem de inhibitör olarak rol alır. INK4/ARF ailesinin üyeleri p16 ve p14 olmak üzere iki proteini kodlar. Her ikisi de hücre siklusunu

inhibe ederek tümör süpresör fonksiyonu görürler.^{10,11,14}

Hücre siklusunu etkileyen onkogenler (Her 2, Ineu, ras, c-myc gibi) ve p53 ve Rb (retinoblastom) gibi tümör baskılayıcı genlerdeki düzensizlikler ve hücre siklus düzenleyicileri olan siklin ve CDK'ların aktivitelerinin yanlış düzenlenmesi, hücre proliferasyonunda artış ve tümör gelişiminde önemli rol oynayan faktörlerdendir.^{11,14} INK4/ARF ailesinden olan p16 geninin, ailesel melanomların yaklaşık %20'sinde mutasyona uğradığı bilinmektedir.¹⁵ Pankreatik adenokarsinom ve özefagusun skuamöz hücreli karsinomlarının yarısında, mesane, baş ve boyun tümörleri ve kolanjiokarsinomlar gibi sporadik kanserlerde sıklıkla p16 mutasyonları tesbit edilmektedir.¹¹

Apoptoz

Organizmanın sürekli dengede kalması, yeni hücreler sentezlenirken, bir kısım hücrelerin de ölümü ile gerçekleşebilir. Saniyede yaklaşık bir milyon hücrenin planlı bir şekilde apoptozla ölüme vücuttan uzaklaştırıldığı bilinmektedir. Hücre ölümü, nekroz (patolojik hücre ölümü) ve apoptoz (fizyolojik hücre ölümü) olmak üzere iki yolla oluşur. Nekrozda hücre içeriğinin dış ortama salınmasıyla inflamasyon oluşurken, apoptozda hücre membranı intakt olduğundan inflamasyon oluşmaz.^{16,17}

Apoptoz kısaca şu aşamalardan geçerek gerçekleşir:

1. Hücre ölümü sinyallerinin alınması
2. Kaspazların aktivasyonu
3. Hücre ölümünü gerçekleştirme
4. Parçalanma
5. Fagositoz

Apoptoz sırasında hücre küçülür, sitoplazma yoğunlaşır ve büzülür. Komşu hücreler ile bağlantılar kopar. Hücre içine sürekli kalsiyum girişi olur. Hücre içi elementleri parçalanır, nükleusta kromatin yoğunlaşır, piknotik hale gelir. DNA, internükleozomal fragmanlara ayrılarak parçalanır. Hücre sitoplazması, bir parça nükleus ile birleşip tomurcuklanarak apoptotik cisimler oluşur. Son olarak da oluşan apoptotik cisimler makrofajlar ya da komşu hücreler tarafından fagosite edilir.^{18,19}

Apoptoz kontrolü

Apoptozun düzenlenmesinde kalsiyum, seramid ve Bcl-2 ailesi gibi moleküller, p53, kaspazlar ve mitokondri gibi organeller yer alır.¹⁹ Apoptozu düzenlemede en önemli role sahip olan, Bcl-2 gen ailesidir. Bu grupta tanımlanan yaklaşık 25 genden bir kısmı pro-apoptotik yani apoptozu ilerleten ölüm aktivatörleri olarak görev yaparken bir kısmı ise anti-apoptotik yani apoptozu engelleyen yaşam aktivatörleri olarak çalışırlar. Pro-apoptotik proteinler Bax, Bad, Bak, Bid, BclXs, Bim, Noxa ve Puma'dır. Bunlar mitokondriden sitokrom-c ve apoptoz indükleyici faktör (AIF) salınımını artırarak apoptozu indüklerler. Anti-apoptotik proteinler ise Bcl-2, Bcl-Xl ve Mcl-1'dir. Bunlar özellikle hücredeki kalsiyum oranını kontrol ederler. AIF ve sitokrom-c salınımını bloke ederek apoptozu önlerler. Bcl-2 ekspresyon düzeyi apoptozu belirleyen faktörlerden birisidir. Apoptozun olup olmayacağını Bax ve Bcl-2 dengesi belirler. Apoptozun gerçekleşmesi için Bax düzeyinin Bcl-2'den fazla olması gerekir.²⁰⁻²³

Apoptoz iki yol üzerinden ilerler. Birincisi, hücre yüzeyindeki ölüm reseptörlerine bağlanan ölüm aktivatörleri tarafından tetiklenen ekstrinsik yol; ikincisi ise hücre içinde oluşturulan sinyallerle tetiklenen intrinsik yoldur. Apoptozu tetikleyen

sinyaller arasında büyüme faktörü eksikliği gibi pozitif uyarıların kesilmesi; radyasyon, UV, hücre içi reaktif oksijen radikallerinde artış, ATP/ADP ve NADH'nin azalması, hipoksi, hücre içi kalsiyum düzeyinin artışı, kemoterapi ilaçları ve DNA hasarına neden olan faktörler gibi negatif uyarıların alınması yer alır.^{24,25}

İntrinsik yolda, hücre içi sinyaller alındıktan sonra ölüm aktivatörü olan Bid, yaşam aktivatörü olan Bcl-2'yi inaktive ederek diğer ölüm aktivatörleri olan Bax ve Bak'ı aktive eder. Bu uyarı sonrasında mitokondri membranında por oluşumu indüklenerek, mitokondri membran permeabilitesi bozulur. Ölüm uyarılarıyla ilgili mitokondriden sitokrom-c, AIF, Smac ve Endonükleaz-G salınımı uyarılır. Sitokrom-c mitokondri membranından sitoplazmaya geçer. Sitokrom-c, Apaf-1 (Apoptotik preteaz aktive eden faktör) ve kaspaz-9 ile birleşerek apoptozom denen bir kompleks oluşturulur. Bu kompleks de diğer kaspazları aktive ederek hücreyi ölüme götürür. Hücre içi kalsiyum artışı ile aktifleşen kaspaz enzimleri hücre iskeletinin yıkılmasında etkilidirler. Bilinen 14 adet kaspaz tipi vardır. Kaspazlar birbirlerini aktifleştirerek proteolitik bir zincir oluştururlar. Bu şekilde sitoplazmik proteinlerin ve nükleer DNA'nın yıkımı gerçekleşir.^{21,25-29} Ekstrinsik yolda ise ölüm reseptörleri olan Fas, TNF-R, DR3, DR4 ve DR5; sırasıyla FasL, TNF alfa, Apo3L, Apo2L, Apo2L gibi ölüm sinyalleri ile bağlanarak ölümü indükleyen sinyal komplekslerini oluştururlar ve kaspaz-8'i aktive ederek DNA fragmentasyonuna neden olurlar.^{20,22,30,31}

Hücre siklusu ve apoptozda kontrol noktası olan düzenleyici proteinlerden biri p53 proteindir. p53, DNA hasarı tamir edilemediği zaman pro-apoptotik proteinlerden Bax, Noxa ve Puma'yı aktive ederek; anti-apoptotik proteinlerden Bcl-2

ve BclXL'yi baskılayarak hücreyi apoptoza yönlendirir. Bu şekilde kanser gelişiminin baskılanmasında önemli rol oynar. İnsanda gelişen kanserlerin %50'sinden fazlasında p53 mutasyonunun olduğu bilinmektedir.^{31,32} p53'e paralel fonksiyonlu bir diğer protein de c-myc'dir. Sürekli c-myc proteini ekspresyonu, hücre siklusunun G1/S fazında durması olayı ile birleşirse hücreyi apoptoza götürür.³³ Aktive T hücresi nükleer faktörünün (NFAT) de hücre siklus, apoptoz, anjiogenez ve metastaz ile ilişkili genleri düzenlediği ve tümör oluşumunda rol aldığı bilinmektedir.³⁴

Apoptoz ve Hastalıklar

Apoptozun artmasıyla ilişkili hastalıklar arasında Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar; tip 1 diyabet, multipl skleroz, romatoid artrit, skleroderma, Sjögren sendromu gibi otoimmün hastalıklar, AIDS ve miyokard enfarktüsü gibi iskemik hastalıklar yer almaktadır. Kanser, herpes virüs, pox virüs ve adenovirüs gibi viral enfeksiyonlar, ateroskleroz ve SLE (sistemik lupus eritematozus) ise, apoptozun azalması ile ilişkili hastalıklardır.^{4-6,31} Tümör hücreleri, Bcl-2 gibi anti-apoptotik proteinlerin ekspresyonuyla veya Bax gibi pro-apoptotik proteinlerin aşağı doğru düzenlenmesiyle apoptoza karşı direnç geliştirebilirler. Hem Bcl-2 hem de Bax'ın sentezlenmesi p53 tümör baskılayıcı gen tarafından düzenlenir. B hücreli lenfomanın bazı formlarında Bcl-2'nin aşırı ekspresyonunun gözlenmesi, hücre ölümündeki başarısızlığın kansere neden olduğunu gösteren en güçlü kanıtlardan biridir.³¹

Günümüzde kemoterapide kullanılan ilaçların geliştirilmesinde esas hedef noktaları olarak hücre siklus ve apoptoz kontrol noktaları ele alınmaktadır. Psoriasisite kullandığımız metotreksat,

hücre siklusunun ilerlemesini engellediği gibi, etki mekanizmalarından biri de Fas (CD95) duyarlılığını artırarak keratinositlerde apoptoza eğilim yaratmaktadır. Bu mekanizmaların iyi anlaşılması, sıklıkla apoptozun azalmasıyla ilişkili kanseri önlemede, apoptozun dışardan indüksiyonuna dayanan yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi açısından önem taşımaktadır. Bunun yanı sıra apoptozu kontrol eden proteinlerin bilinmesi, kanser hastalarında kemoterapiye yanıtı ve prognozu belirlemede yardımcı olabilmektedir.³⁵

Sonuç olarak, hücre ölümü de hücre yaşamı kadar önemlidir ve birçok hastalıkla ilişkili bulunmuştur. Bu yüzden ölüm ile yaşam arasındaki dengenin bozulmaması önemlidir. Apoptotik yolu aktive ve inaktive eden birçok apoptotik protein tanımlanmış olsa da, bu proteinlerin etkileri tam olarak aydınlatılamamıştır ve bunlar devam eden çalışmaların odak noktası haline gelmiştir.

KAYNAKLAR

1. Sherr CJ. The Pezcoller lecture: cancer cell cycles revisited. *Cancer Res* 2000; 60: 3689-95.
2. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26: 239-57.
3. Vaux DL, Korsmeyer SJ. Cell death in development. *Cell* 1999; 96: 245-54.
4. Fadeel B, Orrenius S, Zhivotovsky B. Apoptosis in human disease: a new skin for the old ceremony? *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 266: 699-717.
5. Saikumar P, Dong Z, Mikhailov V, et al. Apoptosis: definition, mechanisms, and relevance to disease. *Am J Med* 1999; 107: 489-506.

6. Edinger AL, Thompson CB. Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. *Curr Opin Cell Biol* 2004; 16: 663-9.
7. Cross F, Roberts J, Weintraub H. Simple and complex cell cycles. *Ann Rev Cell Biol* 1989; 5: 341-96.
8. Raff MC. Size control: the regulation of cell numbers in animal development. *Cell* 1996; 86: 173-5.
9. Vermeulen K, Berneman ZN, Van Bockstaele DR. Cell cycle and apoptosis. *Cell Prolif* 2003; 36: 165-75.
10. Yuan J, Yankner BA. Apoptosis in the nervous system. *Nature* 2000; 407: 802-9.
11. Giacinti C, Giordano A. RB and cell cycle progression. *Oncogene* 2006; 25: 5220-7.
12. Flatt PM, Pietenpol JA. Mechanisms of cell-cycle checkpoints: at the crossroads of carcinogenesis and drug discovery. *Drug Metab Rev* 2000; 32: 283-305.
13. Senderowicz AM, Sausville EA. Preclinical and clinical development of cyclin-dependent kinase modulators. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 376-87.
14. Foster I. Cancer: A cell cycle defect. *Radiography* 2008; 14: 144-9.
15. Bennett DC. Genetics of melanoma progression: the rise and fall of cell senescence. *Pigment Cell Melanoma Res* 2015; 29: 122-140.
16. King KL, Cidlowski JA. Cell cycle regulation and apoptosis. *Ann Rev Physiol* 1998; 60: 601-17.
17. Alles A, Alley K, Barrett JC, et al. Apoptosis: a general comment. *FASEB J*. 1991; 5: 2127-8.
18. Kaufmann SH, Hengartner MO. Programmed cell death: alive and well in the new millennium. *Trends Cell Biol*. 2001; 11: 526-34.
19. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000; 407: 770-6.
20. Adams JM, Cory S. Life or death decisions by the Bcl-2 family. *Trends Biochem Sci* 2001; 26: 61-6.
21. Adrain C, Martin SJ. The mitochondrial apoptosome: a killer unleashed by the cytochrome seas. *Trends Biochem Sci* 2001; 26: 390-7.
22. Spierings DC, de Vries EG, Vellenga E, et al. Tissue distribution of the death ligand TRAIL and its receptors. *J Histochem Cytochem* 2004; 52: 821-31.
23. Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 647-56.
24. Danial NN, Korsmeyer SJ. Cell death: critical control points. *Cell* 2004; 116: 205-19.
25. Baines CP. Role of the mitochondrion in programmed necrosis. *Front Physiol* 2010; 1: 156.
26. Portt L, Norman G, Clapp C, Greenwood M, Greenwood MT. Anti-apoptosis and cell survival. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1813: 238-59.
27. Tsujimoto Y. Role of Bcl-2 family of proteins in apoptosis, apoptosomes or mitochondria. *Genes Cell* 1998; 3: 697-707.
28. Taneja N, Tjalkens R, Philbert MA, et al. Irradiation of mitochondria initiates apoptosis in a cell free system. *Oncogene* 2001; 20: 167-77.
29. Adrain C, Martin SJ. The mitochondrial apoptosome: a killer unleashed by the cytochrome seas. *Trends Biochem Sci* 2001; 26: 390-7.
30. Curtin JF, Cotter TG. Live and let die: regulatory mechanism in Fas mediated apoptosis. *Cell Signal* 2003; 15: 983-92.
31. Elmore S. Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 2007; 35: 495-516.
32. Golias C, Charalabopoulos A, Charalabopoulos K. Cell proliferation

-
- and cell cycle control: a mini review. *Int J Clin Pract* 2004; 58: 1134-41.
33. Raff Mc. Social controls on cell survival and cell death. *Nature* 1992; 356: 397-400.
34. Mognol GP, Carneiro FRG, Robbs BK, Faget DV, Viola JPB. Cell cycle and apoptosis regulation by NFAT transcription factors: new roles for an old player. *Cell Death and Disease* 2016; 7: e2199
35. Holdenrieder S, Stieber P. Circulating apoptotic markers in the management of non-small cell lung cancer. *Cancer Biomark*. 2010; 6: 197-210.