

Programlı Hücre Ölümü; Literatür Bilgilerinin Türkçe Derlemesi

İbrahim Halil Yıldırım¹, Nadir Koçak², Seval Cing Yıldırım³

¹ Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

² Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

³ İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Malatya, Türkiye

Özet

Programlı hücre ölümü, embriyogenez ve metamorfoz, sırasında istemeyen hücrelerin ve gelişimi endokrin bağımlı dokuların ortadan kaldırılmasında ve normal doku homeostasisinin sağlanmasında önemlidir. Bu işlem enerji bağımlıdır ve ölümü gerçekleştirecek olan hücrelerin kendi aktif katılımları ile gerçekleşmektedir. Programlı hücre ölümü, intrinsik ve ekstrinsik yolak olarak da adlandırılan mitokondriyal yolak ve ölüm reseptör yoluyla olarak iki şekilde oluşmaktadır. Bunlar dışında, perforin/granzim yoluyla gerçekleşen hücre ölümü de programlı hücre ölümü içerisinde incelenebilir. Bu her üç yolak, kaspaz-3/7'nin aktifleştirilmesi ve programlı hücre ölümü sonrasında gerçekleşen kromatin yoğunlaşması, DNA parçalanması, nükleer ve sitoplazmik proteinlerin parçalanması gibi olaylarda birleşmektedirler. Hücre dışı uyarılar ile başlatılan ekstrinsik yolak, hücrelerin bu uyarılara verdikleri cevaba bağlı olarak iki farklı şekilde işlemektedir. Bu yolda, Tip I olarak adlandırılan hücreler DISC bileşimi içinde aktifleşen kaspaz-8'in kaspaz-3'ü aktifleştirmesine ihtiyaç duyarlar. Tip II hücrelerde ise, DISC bileşimi ve buna bağlı olarak da aktif kaspaz-8 oluşumu azalmıştır. Programlı hücre ölümünün gerçekleştirilebilmesi için, aktifleşen kaspaz-8 tarafından sitozolik BID proteinin kesilerek mitokondriyal yolagin tetiklenmesi ve kaspaz-3'ün aktifleştirilmesi gerekir. Tip II hücrelerde Bcl-2 ve Bcl-XL proteinlerinin fazla ifade edilmesi kaspaz-8 ve kaspaz-3 aktivasyonunu ve dolayısıyla programlı hücre ölümünü engellemektedir. Bu çalışma ile, bugünkü bilgiler ışığında programlı hücre ölümünün tarihsel, morfolojisi ve biyokimyası hakkında Türkçe bir derleme ile Türk öğrenci ve araştırmacılara katkı sağlamak amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: programlı hücre ölümü, apoptoz, kaspaz, fas, CD95

Programmed Cell Death; A Turkish review of literature

Abstract

Programmed cell death is an important and essential cellular event to eliminate unwanted cells during embryogenesis, metamorphosis, endocrine-dependent tissue atrophy and normal tissue turnover. This is an energy-dependent processes and succeeded by the cells that play an active role in their own death. There are two major programmed cell death signaling pathways, the mitochondrial or intrinsic pathway and the death reseptor or extrinsic pathway. At the same time, perforin/granzyme dependent cell death can be included in the programmed cell death pathways. All the three pathways of programmed cell death come together on the caspase-3/7 activation and on the events that occur after the programmed cell death such as chromatin condensation, DNA fragmentation degradation of nuclear as well as cytoskeleton proteins etc. The cell death initiated by the external stimuli, the extrinsic pathway, occurs in two different way depend on the cell response to these stimuli. In this pathway, Type I called cells require activation of caspase-8 at the DISC (Death Inducing Signaling Complex) followed by activation of caspase-3. In type II cells, DISC formation is impaired and reduced active caspase-8 is generated. Active caspase-8 cleave and activate the cytosolic protein BID wich triggers mitochondrial pathway to generate active caspase-3 to succeed programmed cell death. Overexpression of Bcl-2 and Bcl-XL blocked caspase-8 and caspase-3 activation as well as programmed cell death in Type II cells. In this review, we aim to provide a general overview of current knowledge on the process of programmed cell death including history, morphology and biochemistry as well as contribute by a Turkish review to the Turkish students and scientists.

Key words: programmed cell death, apoptosis, caspase, fas, CD95

Giriş

İnsan vücudu, döllenmiş yumurtanın bölünmesi ve farklılaşmasıyla oluşan trilyonlarca hücreden meydana gelmektedir. Özellikle organ ve dokuların gelişim ve şekillendirilmesi sırasında hücre çoğalması kadar hücrelerin ölmeleri de önemli rol oynamaktadır (1). Bu hücre ölümlerinin, hücreler henüz oluştuğu zamanda belirlenmiş olması nedeniyle bu tip hücre ölümüne “programlı hücre ölümü” denilmiştir (2). Programlı hücre ölümü, vücuttaki yaşlanmış hücrelerin ortadan kaldırılmasında önemli olduğu gibi ovulasyon sonrasında geride kalan

follikül hücrelerinin ve emzirme sırasında oluşan süt bezlerinin ortadan kaldırılması gibi, gelişimi endokrin-bağımlı dokuların ortadan kaldırılmasında da önemlidir (1). Programlı hücre ölümü, doku homeostasisinin sağlanabilmesi için gerekli olan fizyolojik bir işlemdir ve embriyogenez, metamorfoz gibi organizmanın gelişim dönemlerinde de ayrıca önemli rol oynamaktadır (3).

İnsan vücudunda her gün tahminen 10 milyar yeni hücre, programlı hücre ölümü ile ölen hücrelerin yerine yapılmaktadır (4). Bu rakam, gelişim, yaşlanma ya da hastalıklara bağlı olarak

değişebilmektedir (4). Programlı hücre ölümünün önemi, sinir sistemi ve bağışıklık sistem gelişimlerinde daha açık şekilde görülmektedir (1,2). Hem sinir sisteminde hem de bağışıklık sisteminde başlangıçta fazla sayıda hücre üretilmektedir ve daha sonra bu hücrelerin bir kısmının ortadan kaldırılması ile sinir sisteminde sinaptik bağlantılar ve bağışıklık sisteminde de antijen özgülüğü sağlanabilmektedir (4). Örneğin T-hücre reseptör genlerinin düzenlenmesinde hata olan ya da vücudun kendi dokularına karşı reseptör geliştiren timositlerin ortadan kaldırılmaları amacıyla timusta olgunlaştırılan timositlerin yaklaşık %95'i olgunlaşma sürecinde programlı hücre ölümüne uğramaktadırlar (1,4).

Programlı hücre ölümü, ortaya çıkan sonuçlara göre fizyolojik ve patolojik programlı hücre ölümü olarak iki başlıkta incelenebilir (4). Patolojik programlı hücre ölümünde, metabolizmadan kaynaklanan hatalar nedeniyle programlı hücre ölümleri gerçekleşir ve Alzheimer, Parkinson gibi hastalıklar ortaya çıkar (2,4). Fizyolojik programlı hücre ölümü ise hücre çoğalması ve mitoz bölünmenin tersi olarak değerlendirilebilir ancak, programlı hücre ölümü mitoz bölünmeden yaklaşık olarak 20 kez daha hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir (5). Homeostasisin sağlanmasında mitoz bölünme kadar programlı hücre ölümü de önem arz etmektedir. Programlı hücre ölümü olmaksızın yalnızca mitoz bölünmeler gerçekleşmiş olsa, 80 yaşındaki bir insanın kemik kütlelerinin 2 ton ve bağırsaklarının 16 km uzunlukta olması beklenirdi (5). Bu nedenle, hücre homeostasisinin, hücre sayısının mitoz bölünme ile veya hücre öncüllerinden farklılaşarak artması ile ölerik azalması arasında bir dengenin olması ve bu dengenin korunması gerekir (5). Programlı hücre ölümünün düzenlenmesinde oluşan hatalar sonucunda olması gerekenden fazla sayıda ya da daha az sayıda hücrede ölüm gerçekleşebilir (3). Kanser, oto-immün hastalıklar, AIDS, iskemik, Parkinson ve Alzheimer gibi nörodejenaratif oluşumların engellenmesi için, programlı hücre ölümünün de çok sıkı şekilde kontrol edilmesi ve düzenlenmesi gereklidir (3,5).

Programlı hücre ölümü, ölüm uyarısının kaynağına bağlı olarak iki farklı mekanizma ile başarılmaktadır (4). Mitokondriyal yolak ve ölüm reseptör yolağı olarak adlandırılan bu yolakların başlangıç mekanizmaları farklı olmasına rağmen, programlı hücre ölümünün ana proteazları olan kaspazlar ve programlı hücre ölümü sonrası ortaya çıkan programlı

hücre ölümüne özgü morfolojiler noktasında birleşmektedirler (4). Programlı hücre ölümü mekanizmasının anlaşılmasına yönelik gerçekleştirilen çalışmalar, hücre dışı uyarılar aracılığı ile ortaya çıkan ölüm reseptör yolağının hücre türüne göre değişebileceğini göstermiştir. Ölüm reseptörleri yolağı ile başarılan hücre ölümü eğer normal şekilde DISC bileşimi oluşumu, kaspaz-8 aktivasyonu ve efektör kaspazların aktifleştirilmesi ile gerçekleştiriliyorsa bu hücreler Tip I hücreler olarak adlandırılmaktadırlar (6). Tip II hücrelerde ise, ölüm uyarısının hücre dışından olması ve DISC bileşimi sonucunda kaspaz-8 aktivasyonu gerçekleşmesine rağmen, aktifleşen kaspaz-8 miktarı programlı hücre ölümünün gerçekleşebilmesi için yeterli olamamakta ve bu hücrelerde programlı hücre ölümünün başarılabilmesi için mitokondriden sitokrom c salınımı ve kaspaz-9 aktivitesine ihtiyaç duyulmaktadır (7). Tip I ve tip II hücrelerde programlı hücre ölümüne karşı gelişen bu farklı cevaplar, kanser tedavisinde kullanılan kemoterapotiklere karşı cevap düzeyini değiştirdiği gibi programlı hücre ölümü araştırmalarında da anlamlandırılmayan farklı hücrel cevapların oluşmasına neden olabilmektedir. Programlı hücre ölümü araştırmalarında, tip I ve tip II hücrelere bağlı olarak hücrel cevapların farklı olabileceğine dikkat çekmek ve programlı hücre ölümü mekanizması hakkında Türkçe kaynak eksikliğini giderilmesine katkı sağlamak amacıyla, bu çalışmamızda programlı hücre ölümünün tarihsel gelişimi ve mekanizmaları literatürdeki bilgiler ışığında ifade edilmiştir.

Programlı hücre ölümü araştırmaları

Hücre ölümünün, omurgalıların normal gelişimi sırasında gerçekleşen bir durum olduğu Carl Vogt tarafından 1842 yılında tanımlanmıştır (5,8,9). Daha sonra, bu ölüm şeklinin morfolojik olarak ayırt edilebilen belli aşamalar halinde gerçekleştiği görülmüş ve 1800'lü yılların sonu ile 1960'lı yıllar arasında hücre ölümünün değişik aşamaları olan hücre büzülmesi, kromatin yoğunlaşması, hücrenin parçalanması ve en sonunda yutulması gibi ışık ve elektron mikroskop görüntüleri de elde edilmiştir (8). Hücre ölümünde ortaya çıkan bu farklı aşamalar bitki biyologlarının, bitkilerdeki iletim kanalları olan trakelerin belli bir düzen içerisinde ve bilinçli hücre ölümleri ile oluştuğunu 1920'de fark etmeleri ile geliştirilmiştir (2). Hücre ölüm mekanizmasına yönelik morfolojik birçok bilgiye ulaşılmış olmasına rağmen, ölecek olan hücrelerin bu ölüm mekanizmasının neresinde

buldukları ve katkıları bilinmemekteydi. Bu durum Tata tarafından amfibi larvalarında gerçekleştirilen bir çalışma ile açıklığa kavuşturulmuştur (8). Bu çalışma ile amfibi metamorfozu sırasında normalde ortadan kalkacak olan hücrelerin, protein sentezini engelleyen Cycloheximide uygulaması sonrasında ölmedikleri ortaya konulmuştur (8). Bu sonuç, hücre ölümünün, hücrenin kendi proteinlerinin işlevi ile gerçekleştirilmekte olduğunu göstermiştir (8). Bu tip hücre ölümlerinin “programlı hücre ölümü” olarak adlandırılması ise ilk defa Lockshin ve Williams tarafından ipek böceklerinin gelişim dönemlerindeki hücre ölümlerini tanımlamak için 1965 yılında kullanılmıştır (8). Programlı hücre ölümü, şimdilerde klasikleşmiş bir terim olan “apoptosis” olarak da ilk defa 1972 yılında Queensland Üniversitesi’nden John F. R. Kerr, Andrew H. Wyllie ve Profesör Alastair Currie adlı patologlar tarafından, Aberdeen Üniversitesi’ Klasik Yunanca Bölümü’nden Profesör James Cormack’ın önerisi ile adlandırılmıştır (4,8,10). Yunanca dökülmek (ağaç yapraklarının dallardan düşmesi, petal yaprakların çiçeklerden dökülmesi) anlamına gelen bu terim, Hipokrat tarafından “kırılan kemiklerin düşmesi” (the falling off of the bones), Galen tarafından da “uyuzun düşürülmesi” (the dropping of the scabs) anlamlarında kullanılmıştır (11). Aslında bu terim Yunanca’da “a-po-toe-sis” olarak, ikinci “p” harfi sessiz olarak ifade edilmektedir ancak literatüre “apoptosis” olarak girmiştir ve Türkçe’de de apoptoz ya da apoptoz olarak kullanılmaktadır (10,11).

Programlı hücre ölümüne yönelik ilk biyokimyasal kanıt 1976 yılında Skalka ve arkadaşları tarafından, uyarılan lenfositlerin DNA’larının 170-200 bp’lik oligonükleozomal uzunluklarda parçalara ayrıldığına gösterilmesi ile ortaya konulmuştur (12). Bu hücrelerden elde edilen DNA, agaroz jel elektroforezinde yürütüldüğünde, apoptoza özgü bir durum olan merdiven görüntüsü şeklinde bantlar vermektedir (12,13). 1988 yılında, insanlarda *Bcl-2* (B-cell lymphoma-2) geninin lenfomada hücre ölüm sisteminde rol aldığına ortaya konulması, programlı hücre ölümüne yönelik ilgiyi ve bu konuda gerçekleştirilen çalışma sayısını arttırmıştır (8). 1950’lerde programlı hücre ölümü ile ilgili yılda 10’dan daha az sayıda çalışma yayınlanırken, 1988’den sonra haftada 200’den fazla çalışma yayınlanmaya başlamıştır (8). Çalışma sayısındaki bu denli artışta, özellikle tümör oluşumunda kusurlu olan hücrelerin programlı hücre ölümüne

uğrayamadıklarının anlaşılmasının da katkısı olmuştur (8,14). Programlı hücre ölümüne yönelik bugünkü bilgilerimiz ise Jhon Sulston ve ekibi tarafından 1950’lerin sonlarında Cambridge Moleküler Biyoloji Laboratuvarı’nda başlatılan *C. elegans*’ın embriyonik dönem gelişimi çalışmalarına dayanmaktadır (10). Bu çalışmalarda, *C. elegans*’ın vücut hücreleri embriyonik dönemden erişkin döneme kadar takip edilebilmiş ve *C. elegans*’da erişkin bireyin oluşumu için 1090 somatik hücre üretildiği ancak daha sonra bu 1090 vücut hücresinin 131’inin programlı hücre ölümüyle ortadan kaldırıldığı gösterilmiştir (15). Programlı hücre ölümü ile ortadan kaldırılan hücrelerin erişkin kurtlar arasında değişiklik göstermemesi, bu programın keskin bir doğrulukta gerçekleşiyor olduğunu ve sıkı bir şekilde kontrol edildiğini göstermektedir (4). Sulston’un ekibine daha sonradan dahil olan Horvitz, Sydney Brenner ile daha sonra MIT’de kurdukları laboratuvarında *C. elegans* çalışmalarına devam etmişlerdir ve Horvitz’in öğrencilerinden Hilary Ellis ve Chand Desai *C. elegans*’da *Ced-3* ve *ced-4* olarak adlandırılan iki genin programlı hücre ölümü için gerekli olduğunu ve bu genlerden herhangi birisinin işlevinin engellenmesinin normal programlı hücre ölümüne engel olduğunu buldular (10). Michael Hengartner ise, *ced-9* olarak adlandırdıkları bir proteinin *ced-3* ve *ced-4*’ün tersi bir etki ile hücreleri programlı hücre ölümünden koruduğunu, bu gene gerçekleşecek olan bir işlev kaybının normalde sağ kalacak olan hücrelerin de ölmesine neden olduğunu ortaya koydu (15). 1992 yılında *Bcl-2* proteinin *C. elegans*’da da programlı hücre ölümünü engellediği ortaya konulduktan sonra, 1994 yılında Hengartner, *ced-9* ile *Bcl-2* genlerinin benzer DNA dizilerine sahip olduklarını gösterdi (10). 1993 yılında Horvitz’in çalışma grubundan Shai Shaham ve Junying Yuan memelilerde *Ced-3* benzeri işleve sahip olan intelökün-1- β -converting enzimi tanımladılar (10). Daha sonra 1997 yılında memelilerde *Ced-4* benzeri işleve sahip olan Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor) tanımlandı ve bu protein bileşiminin sitokrom-c bağımlı olarak kaspaz-3 aktivasyonuna katıldığı anlaşıldı (10). Daha ileriki çalışmalar ile Smac/DIABLO (Smac; Second mitochondria-derived activator of caspase, DIABLO; Direct IAP binding protein with Low pI), kaspaz enzim sisteminin diğer üyeleri, kaspaz inhibitörleri gibi programlı hücre ölümünde rol alan diğer birçok protein ve gen tanımlandı (8,10,11) Horvitz, Sydney Brenner ve Jhon Sulston, *C. elegans*’da gerçekleştirdikleri çalışmalar

nedeniyle 2002 yılında Tıp veya Fizyoloji dalından Nobel Ödülü ile ödüllendirildiler (4).

Programlı hücre ölümü sırasındaki morfolojik değişimler

Programlı hücre ölümü esnasında ve sonrasında ortaya çıkan apoptoza özgü morfolojiler, sitoplazma, nükleus ve plazma zarı gibi hücrenin kendi organellerindeki çeşitli biyokimyasal ve fiziksel değişimler sonucunda olmaktadır (5). Programlı hücre ölümünün erken döneminde, hücrenin ekstrasellüler matriks ve diğer hücreler ile olan bağlantıları plazma zarı aracılığı ile ayrılır ve hücreler büzülerek komşu hücreler ile olan fiziksel ilişkilerini kaybederler (4,5). Sitoplazmada ise, endoplazmik retikulum genişler ve sisternalar vezikül ve vakuollerini oluşturmak üzere kabarırlar (5). Nükleusda da kromatin yoğunlaşır ve küçük yoğun kütleler olarak toplanır, DNA, nükleozomlar arasından endonükleazlar ile parçalanır (12). Bu DNA parçaları da, daha önce ifade edildiği gibi, agaroz jelde programlı hücre ölümü için tipik olan merdiven görüntüsü şeklinde bantlar olarak gözlenir (5). Daha sonra nükleus kıvrımlar yaparak parçalanır (3,5). Plazma zarı kıvrılarak tomurcuklanır (5). Hücre, paketlenmiş hücre içeriği ihtiva eden ve apoptotik cisimcikler olarak adlandırılan çeşitli ebatlardaki zar küreleri olarak dağılır (5). Apoptotik cisimciklerin fagositik hücrelerce tanınabilmesi için de plazma zarında çeşitli değişiklikler gerçekleştirilir (5). Bu değişimlerden en önemlisi, normalde plazma zarının iç yüzünde bulunan fosfatidil serin molekülünün programlı hücre ölümünün erken evresinde zarın dış yüzüne geçmesidir (3). Fosfatidil serin molekülünün hücre zarının dış yüzeyinde bulunması, komşu hücreler ve makrofajlar tarafından bu hücrelerin tanınmasında ve apoptotik cisimciklerin fagositozunun gerçekleştirilmesinde önemli rol oynar (3).

Programlı hücre ölümü esnasındaki morfolojik ve fizyolojik değişimlerin özgünlüğü, diğer bir hücre ölüm şekli olan nekroz ile karşılaştırılarak daha iyi açıklanabilir. Programlı hücre ölümünde iç ya da dış etkenler sonucunda ama hücrenin kendi aktif katılımı ile gerçekleşen ölüm söz konusu iken, nekroz olarak adlandırılan ölüm şeklinde ise ölecek olan hücrenin kendisinin katılımı olmaksızın, dış etkenler sonucunda gerçekleşen bir ölüm söz konusudur (2,3). Nekrozda hücre içine aşırı sıvı

girmesi sonucu hücreler şişerken, programlı hücre ölümünde hücreler tam tersine küçülür (16,17). Nekrozda kromatin yapısı hemen hemen normal hücredekine benzer görünürken programlı hücre ölümünde kromatin yapı çekirdek zarının çevresinde toplanır ve yoğunlaşır (16,17). Nekrotik hücrelerde plazma zarı bütünlüğünü kaybeder ve hücre içeriği dışarı çıkarak enflamasyona neden olur (16,17). Apoptotik cisimcikler ise plazma zarı ile tamamen çevrelenmiş oldukları için programlı hücre ölümünde hücre içeriği dışarıya sızmaz ve enflamasyon gelişmez (5). Programlı hücre ölümü bunlar dışında da genetik olarak kontrol edilmesi, enerji bağımlı olması ve durdurulabilme/geri döndürülebilme potansiyeli gibi yönleriyle nekrozdan moleküler farklılıklar göstermektedir (17).

Programlı hücre ölüm mekanizması

Doku homeostasisi için gerekli olan programlı hücre ölümü, oldukça karmaşık ve enerji bağımlı bir seri moleküler olayları gerektirmektedir (2,4). Bir hücrenin ölüm programını başlatması ısı, radyasyon, besin yoksunluğu, viral enfeksiyonlar, hipoksi ve hücre içi kalsiyum derişimindeki artış gibi hücre içi etkenlerden kaynaklanabileceği gibi toksinler, hormonlar, büyüme faktörleri, nitrik oksit ve sitokinler gibi hücre dışından gelen uyarılardan da kaynaklanabilir (4,11,18). Programlı hücre ölümü, hücre ölüm mekanizmasını başlatan uyarının kaynağına bağlı olarak intrinsic (mitokondriyal) yolak ve extrinsic (ölüm reseptör yolağı) yolak olarak ikiye ayrılır (4,5). Eğer ölüm uyarısı hücrenin kendisinden geliyorsa intrinsic yolak olarak adlandırılırken, programlı hücre ölümüne uğrayacak olan hücrenin dışındaki bir kaynaktan geliyorsa extrinsic yolak olarak adlandırılır (2,4,5). Ek olarak, T-hücre aracılı perforin-granzim bağımlı hücre ölümünden de bahsedilebilir (2,4). Bu üç hücre ölüm mekanizması, başlangıç noktaları ve işlev gösteren proteinlerin farklı olmasına rağmen, kaspaz3/7 sisteminin işlevselleştirilmesi ve apoptozun özgün patobiyolojisinin (hücre büzülmesi, kromozom yoğunlaşması, kromozomal DNA'nın parçalanması ve nükleer ve hücre iskelet proteinlerinin parçalanması) ortaya çıkması noktasında birleşmektedirler (2).

Ekstrinsic yolak (Ölüm reseptör yolağı)

Ölüm reseptör yolağı olarak adlandırılan bu yolak, ölüm uyarısının hücre dışından gelmesi ve hücre zarında bulunan ve ölüm reseptörleri

olarak da adlandırılan proteinler tarafından ölüm uyarısının hücre içerisine iletilmesi ile başlamaktadır (1,11). Hücre dışından gelen ölüm uyarısı, hücre zarının dış yüzünde bulunan reseptörlere bağlanır ve bu bağlanmanın etkisi ile hücre zarında bulunan bu reseptörlerde eş ya da farklı (homo ya da hetero) birleşmeler oluşur (3,5). Hücre zarının dış yüzeyinde, uyarın aracılığı ile birleştirilen reseptörlerin sitoplazmik kısımları da bir araya gelir ve bu sitoplazmik oluşuma programlı hücre ölümü için gerekli olan aracı proteinler bağlanır (3,4,5). Bu protein bileşimi DISC olarak isimlendirilir ve daha sonra öncül-kaspazlarda bu bileşime dahil olurlar (5,19). DISC bileşimine dahil olan öncül-kaspazların proteolitik işlevlerini engelleyen kısımları kesilerek işlevsel kaspazlara dönüşürler (4,5). Bu işlem, DISC bileşimine girerek yaklaşan öncül-kaspazların birbirlerinin pro-domainlerini kesmeleri sonucunda başarılıdır (4,5).

Bir hücrenin dışarıdan bir uyarın tarafından programlı hücre ölümüne uyarılması, zar-geçişli reseptörlerin varlığını gerektirmektedir (4). Programlı hücre ölümünde rol alan reseptörler, hücre zarında bulunmaktadırlar ve ekstrasellüler ligandların bağlanması sonucunda işlev kazanırlar (5). Hücre yüzeyinde bulunan ölüm reseptörleri TNF süper gen ailesi üyesidirler (4). TNF reseptör ailesi üyelerinde benzer şekilde sisteince zengin bir hücre dışı domain ve sitoplazmada da ölüm domaini (death domain; DD) olarak adlandırılan yaklaşık 80 amino asitlik bir bölüm bulunur (4). Bu “death domain” hücre dışından gelen ölüm uyarısının hücre içerisine iletilmesinde oldukça önemlidir (4). Fas, DR4, DR5, CAR1, p75, TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) ve TNF-R1 de TNF reseptör ailesi üyesidirler ve sitoplazmik bölgelerinde death domain bulunur (5). Bugüne kadar en iyi tanımlanmış olan ölüm reseptörleri ve bu reseptörlere bağlanarak programlı hücre ölümünü başlatan ligandları; FasL/FasR, TNF- α /TNFR1, Apo3L/DR3, Apo2L/DR4 ve Apo2L/DR5 şeklindedir (4). Ekstrinsik hücre ölüm mekanizmasında en iyi çalışılmış olan reseptörler Fas reseptörü ve TNF reseptörü-1'dir (5). Fas reseptörü CD95 ve Apo-1 olarak da bilinmektedir (1). Hem Fas hem de TNFR-1 sitozolik ölüm kısmı (death domain) bulduran TNF reseptör ailesine dahildir (5). TNF ailesinin diğer bir üyesi olan TRAIL birçok hücrede DR4 ve DR5 reseptörlerine bağlanarak FasL'ye benzer şekilde programlı hücre ölümü mekanizmasının hızlı bir şekilde yürütülmesinde rol almaktadır (3). DR4 ve DR5 reseptörlerine benzeyen DcR1 ve DcR2

(decoy=tuzak) reseptörleri bazı hücrelerin yüzeyinde bulunmakta ve DR4 ve DR5 ile yarışarak TRAIL'in etkinliğini azaltarak apoptotik uyarının soğurulmasında rol almaktadırlar (3).

Fas uyarı mekanizmasında FasL hücre dışından gelen ölüm uyarıcısıdır ve Fas'a bağlanır (1,4). FasL, T-hücrelerinin uyarılması sonucunda bu hücrelerce ifade edilir ve hücre zarı yüzeyinde Fas bulunan hücrelere bağlanarak programlı hücre ölümünü başlatır (5). FasL, TNF, lymphotoxin, CD30 ligand, 4-1BB ligand, CD40 ligand, CD27 ligand ve TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) proteinleri gibi TNF ailesi üyesidir (1). FasL, N-ucu sitoplazmada C-ucu ise ekstrasellüler alanda bulunan bir membran proteini olarak sentezlenir (1). FasL'nin ekstrasellüler bölgesinde yer alan yaklaşık 150 amino asitlik bölge TNF ailesi üyeleri arasında yüksek oranda korunmuştur (1). Membrana bağlı TNF'nin bir membran metalloproteinaz ile kesilmesi sonucunda ekstrasellüler kısmı ayrılır ve çözülmüş TNF üretilmiş olur, aynı şekilde FasL'nin ekstrasellüler kısmı kesilerek çözülmüş bir sitokin olan FasL elde edilir (1). Çözünmüş TNF'ler ve dolayısıyla FasL üçlü yapıda bulunurlar (1). Üçlü yapıdaki FasL'nin Fas'a bağlanması sonucunda 3 Fas reseptörü bir araya gelir (3,5). Reseptörlerin bu üçlü bileşimi, sitoplazmik DD bölgelerinin de bir araya gelmesine neden olur ve programlı hücre ölümünde rol alan FADD (Fas-associating protein with dead domain) aracı proteini de C-ucunda bulundurduğu DD bölgesi ile bu bileşime katılır (1,5). Fas reseptörlerinin üçlü yapılar oluşturmasında, Sfingomielinaz enziminin (Smase) hücre zarında bulunan sfingomiyelini hidrolize ederek ceramid molekülü oluşturması da rol oynamaktadır (3,5). Fas uyarı mekanizması ceramid oluşumu olmaksızın da işlemektedir ancak ceramid bu uyarının büyütülmesinde rol oynamaktadır (5). SMAz enzimi, programlı hücre ölümü başladıktan sonra işlevsel hale gelen kaspaz-3 ile de uyarılmaktadır (5). Ceramid, programlı hücre ölümünü uyarabilmektedir ve birçok programlı hücre ölümünü uyarın ilaç ceramid derişimini arttırarak etkili olmaktadır (5). Örneğin, kemoterapotik ilaçlardan etoposid ve bir steroid olan dexametazon SMAz enzimini uyararak ya da doğrudan ceramid sentezini uyararak ceramid oluşumu ile programlı hücre ölümüne katkı sağlamaktadır (5).

FasL, Fas ve FADD'nin oluşturduğu bileşik DISC (Death Inducing Signaling Complex) olarak adlandırılır (3,4). DISC bileşimine, başlatıcı kaspazlar olan kaspaz-8 veya kaspaz-10 bağlanır (5). Kaspaz-8'inde N-ucunda 2 tane DED bölgesi vardır ve öncül-kaspaz-8'ler bu DED bölgeleri aracılığı ile FADD'nin DED bölgesine bağlanırlar (1). Kaspaz-8, FADD-like ICE (FLICE) olarak da bilinir, ICE ise Interleukin 1 β converting enzyme'dır (6). Öncül-kaspaz-8'lerin DISC bileşimi içerisindeki yerleşimleri sonucunda öncül-kaspaz-8'ler birbirlerine yakınlaşırlar ve birbirlerini aktive ederler (4,5). İşlevsel hale gelen kaspaz-8 daha sonra doğrudan kaspaz-3'ü veya diğer effektör kaspazları keserek Poly(ADP) ribose polymerase (PARP), lamin, rho-GDI ve aktin gibi hücrel elemanların proteolitik olarak parçalanmasını sağlar (1,3).

Fas reseptör aracılığı ile gerçekleşen programlı hücre ölümü, DISC bileşiminde üretilen aktif kaspaz-8 miktarına bağlı olarak iki farklı şekilde gelişebilmektedir (6,20). DISC bileşiminde aktifleşen kaspaz-8 miktarı hücre zarının yapısı ve hücre zarındaki komponentlerden kaynaklanmaktadır (7). Daha önce bahsedildiği gibi, Fas bağımlı ölüm uyarısının oluşabilmesi, Fas reseptörlerinin FasL bağlanması sonrasında oluşturdukları üçlü Fas yapısı ile ilişkilidir (3,5). Bir kısım hücrelerde, hücre yüzeyinde bulunan Fas reseptörleri src ailesi üyesi kinazlarca ve glikozilfosfatidil-inositol bağlı proteinler ve kolesterolce zengin deterjan-dirençli lipid sallarında yerleşmiştir (7). Mikrodomain olarak da isimlendirilen bu lipid salları, hücrelerdeki ölüm reseptörleri aracılığı ile gerçekleşen programlı hücre ölümüne duyarlılık ve davranışı belirlemektedir (7). Hücreler, mikrodomain yapıları ve programlı hücre ölümüne cevaplarına bağlı olarak iki tipe ayrılmaktadırlar (21). Tip I hücreler, mikrodomain yapılarında Fas reseptörleri bulundurulur ve bu hücrelerde Fas oligomerizasyonuna bağlı olarak programlı hücre ölümünün gerçekleşmesi için gerekli olan miktarda kaspaz-8 aktive edilebilir (7). Tip II hücrelerde ise, mikrodomain yapılardan kaynaklı olarak yeterli DISC bileşimi oluşmaz ve buna bağlı olarak yeterli miktarda kaspaz-8 aktive edilemez (7). Bu nedenle tip II hücrelerde programlı hücre ölümünün gerçekleşebilmesi için mitokondriyal yolağa da ihtiyaç duyulur (6,20). Tip II hücrelerindeki bu durum, DISC bileşiminde aktive olan az miktardaki kaspaz-8 tarafından başlanır (6,7). Kaspaz-8, bir sonraki bölümde anlatılan mitokondriyal yolak ile hücre ölüm reseptör yolağı arasında da bir ilişki oluşturur (5,20). Kaspaz-8, Bid (BH-3 interactin

domain detah agonist) proteinini keserek tBid (tBid; truncated Bid) oluşumuna neden olur ve tBid'in mitokondriye geçerek mitokondri zarı geçirgenliğini değiştirmesine ve mitokondriden salınan sitokrom c'ye bağlı olarak kaspaz-9 ve kaspaz-3'ün aktive edilmesine imkan sağlar (5,20).

İntrinsic (Mitokondriyal) yolak

İntrinsic yolak, reseptör aracılı olmayan ve hücre içi uyarılar sonucunda mitokondrinin de katılımı ile gerçekleşen bir programlı hücre ölüm şeklidir (4). Hücrenin içinden kaynaklanan ölüm uyarılarının programlı hücre ölümü üzerine etkileri pozitif veya negatif şeklindedir (4). Büyüme faktörleri, hormon ve sitokin gibi hücre ölüm programını bastıran uyarıların ortadan kalkması negatif uyarı sistemini oluştururken, radyasyon, toksinler, hipoksi, ateş, viral enfeksiyonlar ve serbest radikaller gibi uyarılar da programlı hücre ölümünü pozitif şekilde uyarmaktadırlar (4). Bu uyarıların tamamı, mitokondri membranının geçirgenliğinin bozulmasına neden olur ve normalde mitokondri membranlar-arası bölgede bulunan iki protein grubunun sitozole salınmasını sağlayarak programlı hücre ölümüne katkıda bulunurlar (4). Bu gruplardan ilki, sitokrom c, Smac/DIABLO ve serin proteaz HtrA2/Omi'dir (4,22). Bu proteinler kaspaz bağımlı mitokondriyal yolağı işlevselleştirirler (4,22). Sitokrom c, Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor-1) olarak adlandırılan proteine bağlanarak apoptozom oluşumunda ve Apaf-1 ile kaspaz-9'un aktive edilmesinde rol alır (4,23). Smac/DIABLO ve HtrA2/Omi ise, programlı hücre ölümü inhibitörleri olan IAP'ların (inhibitor of apoptosis) işlevlerini engelleyerek programlı hücre ölümünü düzenlerler (4,22). İkinci grup proteinler ise, AIF, endonükleaz G ve CAD (Caspase activated DNase)'dir (4). Bu proteinlerde programlı hücre ölümü sırasında mitokondriden salınırlar (4). Ancak bu proteinler, apoptozun daha geç evresinde, hücre ölümünün kesinleşmesi sonrasında salınırlar (4). Bunlardan AIF nükleusa geçerek DNA'yı 50-300 kilobazlık parçalara böler ve bunun sonucunda kromatin nükleus çevresinde yoğunlaşır (4). Çekirdek yoğunlaşmasının bu aşaması "stage I" olarak isimlendirilir (4). Endonükleaz G'de nükleusa geçer ve DNA'yı nükleozomlar arasından keserek parçalara ayırır (4). AIF ve Endonükleaz G kaspaz bağımsız olarak işlev gösterirler (4). CAD ise daha geç bir evrede mitokondriden salınır ve kaspaz-3 tarafından kesilip aktifleştirildikten sonra nükleusa geçer ve

nükleozomlar arasından DNA'yı keser (4). CAD'nin işlevi sonrasında kromatin daha da yoğunlaşır ve bu yoğunlaşma da "stage II" olarak isimlendirilir (4).

Programlı hücre ölümü sırasında mitokondride gerçekleşen olaylar Bcl-2 ailesi üyeleri tarafından düzenlenir ve kontrol edilir (4,14). Bcl-2 geni, memelilerde 1988 yılında tanımlanmış ve *C. elegans*'da keşfedilmiş olan Ced-9 proteini ile benzer işleve sahip ve dizi homolojisi gösteren bir protein olduğu belirlenmiştir (10). Bcl-2, memelilerde *C. elegans*'daki Ced-9'dan farklı olarak, şimdiye kadar 25 üyesi tanımlanmış olan bir gen ailesidir (4). Bcl-2 gen ailesi üyelerinden Bcl-2, Bcl-x, Bcl-XL, Bcl-XS, Bcl-w, BAG programlı hücre ölümünün aleyhine işlev gösterirken, Bcl-10, Bax, Bak, Bid, Bim, Puma, Noxa ve Blk gibi üyeleri de programlı hücre ölümü lehine işlev gösterirler (4,14). Bcl-2 ailesi üyelerinin programlı hücre ölümündeki ana etkilerinin, mitokondri membran geçirgenliğini değiştirerek Sitokrom c salınmasına neden olmaları olarak düşünülmektedir ve bir hücrenin programlı hücre ölümü mekanizmasını başlatıp başlatmaması Bcl-2 ailesi üyelerinin; anti-apoptotik ve pro-apoptotik üyeleri arasındaki dengeye bağlıdır (5,9,16).

Granzim/Perforin Yolağı

Sitotoksik T-Lenfositler, hedef hücrelerde programlı hücre ölümünü "ölüm reseptör" yolağı ile başlatabilecekleri gibi Granzim/Perforin yolağı olarak adlandırılan mekanizma ile de başlatabilirler (4). Sitotoksik T-lenfositler, tümör hücreleri veya virüs ile enfekte olmuş hücrelerin hücre membranlarında perforin olarak adlandırılan molekül ile porlar oluşmasını sağlar ve Granzim A ve Granzim B ihtiva eden granüllerini açılan bu gözeneklerden hedef hücrelere salarlar (4). Granzim B, bir serin proteazdır ve bu özelliği ile öncül-kaspaz-10'un ve ICAD (Inhibitor of caspase-activated DNase) gibi proteinlerin kesilmesinde rol alır (4,5). Granzim B, Bid'in kesilerek tBid oluşturulmasında da rol alarak mitokondriden sitokrom c salınmasında da rol alabilir (4). Granzim B ayrıca, doğrudan öncül-kaspaz-3'ü de keserek aktive edebilir (4).

Granzim A özellikle tümör hücrelerinde, kaspaz bağımsız bir mekanizma ile programlı hücre ölümünün gerçekleşmesinde rol alır (4). Bu işlevini, bir tümör baskılayıcı gen olan NM23-H1 DNaz genini engelleyen SET proteinlerini keserek gerçekleştirir (4). NM23-H1 DNaz,

DNA'da çentikler açarak DNA çift zincirinin yapısını bozarak, tek zincir DNA hasarı ile programlı hücre ölümünde rol alır (2,4). NM23-H1 DNaz genini engelleyen SET protein bileşimi, SET, Ape1, pp32 ve HMG2 proteinlerinden oluşmaktadır ve kromatin ve DNA'nın bütünlüğünün korunmasında rol aldıkları düşünülmektedir (4).

Kaspazlar

Ölüm reseptör yolağı, mitokondriyal yolak ve Granzim/perforin yolaklarının üçü de programlı hücre ölümünün efektör enzimleri olan kaspaz işlevlerinde birleşirler (2,4). Kaspazlar, aktif bölgelerinde sistein amino asiti (C) içerdikleri ve substratlarını aspartik asitten (Asp) sonra kestikleri için "Caspase" olarak adlandırılmışlardır (2,16,23). Bugüne kadar insanda 10 ve farede 4 olmak üzere, memelilerde toplam 14 kaspaz tanımlanmıştır (19). Hücre içerisinde inaktif öncül enzim olarak bulunurlar ve genellikle diğer bir kaspazın işlevi ile bazen de kendi kendilerinin oto-proteolitik katalizi ile işlev kazanırlar (4,5,19). Kaspazların hem kendilerini hem de diğer kaspazları proteolitik olarak işlevselleştirmesi, apoptotik uyarının büyütülmesine ve programlı hücre ölümünün çok hızlı bir şekilde gerçekleştirilmesine neden olur (2). Kaspazlar, iki alt aileye ayrılırlar, bunların prototipleri Kaspaz-1 (ICE) ve CED-3 olan interlökin-1 β converting enzim (ICE)-benzeri ve *Caenorhabditis elegans* protein-3 (CED-3)-benzeri alt ailelerdir (19). Bütün kaspazlar, kestikleri proteinin aspartik asitten sonraki dört amino asitine yüksek özgüllük gösterirler ve bu özgüllüklerine göre de sınıflandırılırlar (19). Aspartik asitten sonra, proteinin N-ucuna doğru WEHD amino asitlerine özgüllük gösteren kapsalar kaspaz-1, -4, -5 ve -13'tür ve bunlar grup I olarak anılırlar (17). Kaspaz-2, -3 ve -7 DEXD amino asit dizisine, kaspaz-6, -8, -9 ise (I/V/L)EXD (X; herhangi bir amino asit) dizisine özgüllük gösterirler ve sırasıyla grup II ve grup III olarak anılırlar (19). Ökaryotik proteinler arasından benzer özgünlüğe sahip olan tek proteaz Granzim B'dir (19).

Aktif kaspazlar, 17 ile 21 kDa büyüklüğü aralığında değişen büyük alt birimler ve 10 ile 13 kDa büyüklüğü aralığında değişen küçük alt birimlerden oluşan eş iki yapıdan (homodimer) oluşmaktadır (2). Aktif bölgedeki proteolitik merkezi oluşturan sistein ve histidin büyük alt birimde yerleşiktir (2). Kaspazlar N-uçlarında 3 ile 24 kDa büyüklüğü arasında değişen pro-

domainleri takip eden büyük ve küçük alt birimler ile işlevsiz öncül enzimler olarak sentezlenmektedirler (19). Bu pro-domain bölgelerin diğer bir kaspaz tarafından ya da aynı kaspazların bir araya gelmesi sonucunda proteolitik olarak ayrılmasıyla kaspazlar işlev kazanırlar (2,19). Prodomain kısımlar kaspazların işlevlerinin belirlenmesinde de rol almaktadır (19). Örneğin, Kaspaz-8, -2 ve -9'un pro-domainleri 90 amino asitten daha uzundur ve bu bölgede Kaspaz-8'de olduğu gibi DED bölgesi veya kaspaz-9 ve -2'de olduğu gibi CARD (caspase recruitmet domain) bölgesi bulunur, bu kaspazlar prodomainlerindeki gruplar aracılığı ile programlı hücre ölümünde rol alan diğer proteinlere bağlanırlar (5). DED'ler, FADD ve TRADD gibi aracı proteinlerin DED bölgelerine bağlanmalarında rol alır (2). CARD bölgesi kaspazlar, Apaf-1 ve apoptoz engelleyicileri olan c-IAP1 ve c-IAP2 proteinlerinde korunmuştur ve bu proteinlerin diğer proteinler ile fiziksel etkileşimlerinde rol almaktadır (2). Kaspaz-3, kaspaz-6 ve kaspaz-7'nin prodomain kısımları kısadır (5). Kaspazlar, prodomain kısımlarının da etkileri ile ortaya çıkan işlevlerine göre de sınıflandırılabilirler. İşlevsel olarak kaspazlar üç sınıfa ayrılabilir; (i) başlatıcı kaspazlar, DED domain ya da CARD (caspase recruitmet domain) bölgesine sahip olan Kaspaz-8 ve kaspaz-10 (ii) infazıcı/kesici kaspazlar, bunların prodomainleri kısadır (iii) kalan diğer kaspazların ise görevi apoptozdan çok sitokinlerin olgunlaştırılmasında rol almaktır (2,5).

Hücre artıklarının fagosite edilmesi

Programlı hücre ölümü ile ortadan kaldırılan hücrelerden kaynaklanan apoptotik cisimcikler, yüzeylerinde taşıdıkları fosfatidil serin molekülleri nedeniyle çevre hücreler ve makrofajlar tarafından tanınırlar ve hızlıca fagosite edilerek ortadan kaldırılırlar (4). Fosfatidil serin, "fosfatidil serin flippaz" enzimin ATP bağımlı işlevi ile hücre zarının sitoplazmik yüzeyinde tutulur (5). Flippaz enziminin kaspazlar tarafından etkisinin kaldırılmasıyla, fosfatidil serin molekülü hücre zarının dış yüzüne geçer (5). Fosfatidil serin, rekombinant olarak elde edilmiş bir protein olan Annexin V ile kuvvetli şekilde bağlanmaktadır ve programlı hücre ölümü ile oluşmuş apoptotik cisimcikler bu protein yardım ile ayrıt edilebilir (4,5). Fosfatidil serin ile birlikte Annexin I ve Calreticulin gibi proteinler de programlı hücre ölümü sırasında hücre zarının dış yüzünde apoptotik cisimciklerin tanınmasında ve fagosite

edilmesinde rol almaktadırlar (4). Calreticulin, apoptotik cisimcikleri fagosite eden hücrelerin yüzeylerinde bulunan LDL-reseptör ilişkili proteine bağlanan bir proteindir ve fosfatidil serin ile birlikte apoptotik cisimciklerin tanınmasında rol oynar (4)

Kaynaklar

- 1- Nagata S. (1997). Apoptosis by death factor, Cell, 88:355-365.
- 2- Rastogi RP, Sinha R, Sinha RP. (2009). Apoptosis: molecular mechanisms and pathogenicity, EXCLI Journal, 8:155-181.
- 3- <http://www.sgul.ac.uk/dept/immunology/~dash> (Access date: 11/11/2010).
- 4- Elmore S. (2007). Apoptosis: A review of programmed cell death, Toxicologic Pathology, 35:495-516.
- 5- Lawen A. (2003). Apoptosis-an introduction, BioEssays, 25:888-896.
- 6- Scaffidi C, Fulda S, et al. (1998). Two CD95 (APO-1/Fas) signaling pathways, The EMBO Journal, 17(6):1675-1687.
- 7- Legembre P, Daburon S, et al. (2005). Amplification of Fas-mediated Apoptosis in Type II Cells via Microdomain Recruitment, Molecular and Cellular Biology, 25(15):6811-6820.
- 8- Vaux DL. (2008). Cell Death and Differentiation, Apoptosis timeline, 9:349-354, 2002.
- 9- Khosravi-Far R, White E, Programmed cell death in cancer progression and therapy, Advances in Experimental Medicine and Biology, Volume 615.
- 10- http://en.wikipedia.org/wiki/History_and_highlights_in_apoptosis_research (Access date: 03/11/2010).
- 11- <http://en.wikipedia.org/wiki/Apoptosis> (Access date: 03/11/2010).
- 12- Robertson JD, Orrenius S, Zhivotosky B, (2000). Review: Nuclear events in apoptosis, Journal of Structural Biology, 129:346-358.
- 13- Aydemir EA, Fışkın K. (2006). The antitumoral and biochemical effects of gossypol on human cervix cancer cell line ME-180, Int. J of Hemato and Oncol, 4(16):178-184.
- 14- Youle RJ, Strasser A. (2008). The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death, Molecular Cell Biology, 9:47-59.

- 15- Lettre G, HEngartner MO. (2006). Developmental apoptosis in *C. elegans*: a complex CEDnario, *Molecular Cell Biology*, 7:97-108.
- 16- Cooper GM, Hausman RE. (2009). *The Cell: A Molecular Approach*, 5th Eddition, Sinauer Associates.
- 17- Kanduc D ve ark. (2002). Cell death: Apoptosis versus necrosis (Review), *Int J Oncology*, 21(1):165-170.
- 18- Çetin E, Yıldırım B, et al. (2007). Karaciğer ışınlamasına bağlı erken ve geç yan etkilerin önlenmesinde betaksolol'ün yeri, *Int. J Hemato. Onc.*, 4(17): 220-227.
- 19- Grütter MG. (2000). Caspases: key players in programmed cell death, *Current Opinion in Structural Biology*, 10:649-655.
- 20- Hao Z, Mak TW. (2010). Type I and Type II pathways of Fas-mediated apoptosis are differentially controlled by XIAP, *Jorunal of Molecular Cell Biology*, 2:63-64.
- 21- Scaffidi C, Schmitz I, et al. (1999). Differential modulation of apoptosis sensitivity in CD95 type I and type II cells, *The Journal of Biological Chemistry*, 274(32):22532-22538.
- 22- Fulda S. (2010). Evasion of apoptosis as a cellular stres response in cancer, *International Journal of Cell Biology*, Article ID 370835.
- 23- Riedl SJ, Salvesen GS. (2007). The apoptosome: signalling platform of cell death, *Molecular Cell Biology*, 8:405-413.

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr.İbrahim Halil Yıldırım

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı, Diyarbakır

e-mail: ihyildirim@yahoo.com

Fax: (0412) 248 80 20