

Granzimlerin Apoptotik ve Non-Apoptotik Etkileri

Ercan KESKİN¹, Durmuş HATİPOĞLU^{1*}

¹Selcuk University Faculty of Veterinary Medicine Physiology Department Konya / TURKEY

*Corresponding author e-mail: drhatip@selcuk.edu.tr

ÖZ

Granzimler (granül enzimler), değişime uğramış hücreler ve virüs enfeksiyonlarından memelileri korumak için hedef hücreler içerisine sitotoksik lenfositlerin granüllerinden salınan proteazlardır. Hedef hücre sitoplazmalarının içerisine salınan granzimler bu hücrelerin ölümünü gerçekleştirmek amacıyla bazı spesifik yolları harekete geçirirler. Hedef hücrenin ölümünün gerçekleştirilmesi bu proteazların esas fonksiyonları olarak değerlendirilse de elde edilen bulgular hücre ölümü dışında başka fonksiyonlara da sahip olduklarını göstermektedir. Granzimler, virusların konakçıda hayat sikluslarını devam ettirebilmeleri için kodladıkları proteinleri parçalamak suretiyle doğrudan antiviral aktivite de gösterebilmektedirler. Çeşitli yangısal süreçlerde dolaşımdaki granzimlerin seviyelerinin artması ve ekstraselüler substratların granzimlerce parçalanması bu proteazların kronik inflamatuvar hastalıkların patogenezi, tümör hücrelerinin rejeksiyonu ve viral enfeksiyonlarla ilgili ekstraselüler etkilere sahip olabileceğini de göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Granzim, Granzim A, Granzim B, Perforin, Apoptozis

Apoptotic and Non-Apoptotic Effects of Granzyme

ABSTRACT

Granzymes (granule enzymes) are proteases that are released from the granules of cytotoxic lymphocytes into target cells to protect mammals from altered cells and virus infections. Granzymes released into the target cell cytoplasm activate some specific pathways to effect the death of these cells. Although the realization of death of the target cell is regarded as the main function of these proteases, the findings show that they have other functions besides cell death. Granzymes can display antiviral activity directly by breaking down the proteins they encode so that the virus can survive life cycles in the host. The increased levels of circulating granzymes and disintegration of extracellular substrates into granules in various inflammatory processes indicate that these proteases may have extracellular effects on pathogenesis of chronic inflammatory diseases, rejection of tumor cells and viral infections.

Key Words: Granzyme, Granzyme A, Granzyme B, Perforin, Apoptosis

GİRİŞ

Granzimler (granül enzimler), değişime uğramış hücreler ve virüs enfeksiyonlarından memelileri korumak için hedef hücreler içerisine sitotoksik lenfositlerin granüllerinden salınan proteazlardır. Hedef hücre sitoplazmalarının içerisine salınan granzimler bu hücrelerin ölümünü gerçekleştirmek amacıyla bazı özel yolları harekete geçirirler. Hedef hücrenin ölümünün gerçekleştirilmesi bu proteazların esas fonksiyonları olarak değerlendirilse de elde edilen bulgular hücre ölümü dışında başka fonksiyonlara da sahip olduklarını göstermektedir. Granzimler, virusların konakçıda hayat sikluslarını devam ettirebilmeleri için kodladıkları proteinleri parçalamak suretiyle doğrudan antiviral etkinlik gösterebilmektedirler. Çeşitli yangısal süreçlerde dolaşımdaki granzimlerin seviyelerinin artması ve ekstraselüler substratların granzimlerce parçalanması bu proteazların kronik inflamatuvar hastalıkların patojenezisi, tümör hücrelerinin rejeksiyonu ve viral enfeksiyonlarla ilgili ekstraselüler etkilere sahip olabileceğini göstermektedir (Romero ve Andrade 2008).

Granzimler büyük çoğunlukla sitotoksik lenfositler tarafından ekspre edilen serin proteaz subfamilyasına ait enzimlerdir. Granzim (Gzm) A ve B tanımlanan ve klonlanan ilk enzimlerdir. Granzimlerin ilk olarak hücrel sitotoksikite ile ilgili rolleri bilinmesine rağmen, hedef hücre ölümüne dair fonksiyonlarının tanımlanması daha sonraları olmuştur (Romero ve Andrade 2008). Granzimler için ilk moleküler hedeflerin ekstraselüler matriks proteinleri olduğu bulunmakla birlikte, granzimlerin T lenfositlerin ekstraselüler matriks proteinlerine yapışmasını önlediği bildirilmektedir (Sayers ve ark., 1992). Bununla birlikte, gzmB'nin efektör kaspazların aktivasyonu ve direk parçalanması yoluyla hedef hücre apoptozunu indükleyebileceği bildirimler arasındadır (Darmon ve ark., 1996). Bu nedenle son yıllardaki çalışmalar granzimlerin hedef hücre ölümünü nasıl indükledikleri ve bu enzimlerin antitümör ve antipatojen etkilerinin altında yatan mekanizmalar üzerinde yoğunlaşmıştır (Andrade ve ark., 2004, Kelly ve ark., 2004).

Granzimler sitotoksik hücrelerden bir kez salındığında ekstraselüler ve hedef hücre içerisinde olmak üzere konakçının farklı iki kompartmanında bulunabilmektedirler (Romero ve Andrade 2008). İki senaryoda da GzmB diğer enzimler gibi kaspazlar, BH3-interacting domain death agonist (Bid) ve Inhibitor of Caspase Activated DNase (ICAD) ile tümör yaşamıyla ilgili yüzey reseptörleri

(Loeb ve ark., 2006) ve ekstraselüler matriks proteinlerinin parçalanması dahil farklı ölüm efektör yollarını kullanarak hedef hücre ölümünü indükleyebilmektedir (Andrade ve ark., 2004).

Granzimlerin hedef hücre ölümünün indüksiyonuna dair rollerine ilave olarak diğer önemli fonksiyonlara da sahip olduğuna dair bulgular söz konusudur (Buzza ve Bird 2006). Son yıllardaki çalışmalar insan, fare ve rat GzmB'lerinin fonksiyonel ve yapısal olarak farklı olduğunu göstermiştir (Andrade ve ark., 2003, Kaiserman ve ark., 2006, Casciola-Rosen ve ark., 2007).

Granzimler

Granzimler katalitik alanda korunan üçlü ana yapıya (His57, Asp102 ve Ser195) sahip kemotripsin ile yakından ilişkili bir serin proteaz subfamilyasıdır. İnsan sitotoksik lenfositleri substrat spesifikliğı açısından farklı beş granzim içerir. Her ne kadar ilk tanımlanan GzmA olmasına rağmen GzmB'den daha az bilgi mevcuttur. GzmA, apoptozdan morfolojik olarak farklı olmayan kaspazdan bağımsız hücre ölümünü indükleyen bir triptazdır (Beresford ve ark., 1999, Shresta ve ark., 1999). GzmA, ECM proteinlerinden kollajen, fibronektin ve bazal membran proteoglikanları da dahil birçok substratı parçalama özelliğine sahiptir. Hedef hücre ölümüne ilaveten GzmA dokular arasında sitotoksik lenfositlerin migrasyonu veya damar dışına çıkmalarında rol oynamaktadır (Buzza ve Bird 2006). GzmA'nın fibrin pıhtıları yoluyla sitotoksik lenfositlerin migrasyonunu kolaylaştırdığı ve pro-ürokinazı aktive etme özelliğine sahip olduğu bildirilmektedir (Brunner ve ark., 1990). Bununla ilgili olarak GzmA'nın sinir hücreleri üzerinde bulunan trombin reseptörünü parçalayarak akson ve astrositlerde morfolojik değişikliklere yol açtığı gözlemlenmiştir (Suidan ve ark., 1996). Ayrıca GzmA ekstraselüler olarak monosit, fibroblast ve epitel hücreleri tarafından sitokin üretiminin indüksiyonu gibi diğer biyolojik tepkileri düzenleyebilmektedir. GzmB, serin proteazlar arasında özgün bir yapıya sahip olup, kaspazlar gibi aspartik asit uzantılarını parçalamaktadır (Lord ve ark., 2003, Trapani ve Sutton 2003). Kaspazları, özellikle hücre ölümünde kilit rol oynayan kaspaz-3'ü aktive ederek hedef hücre apoptozunu indükleyen bir proteazdır (Darmon ve ark., 1995, Adrain ve ark., 2005). İnsan GzmB'si kaspaz substratlarını, Bid'i ve ICAD'ı parçalamak suretiyle kaspazlar ile aynı mitokondriyal ve DNA yıkım yollarını aktive ederek hücre ölümünü indükler (Casciola-Rosen ve ark., 2007). Birbiri ile yakından ilişkili olan GzmB ve H'yi kodlayan genler insan kromozom 14q11.2 bölgesinde toplanmıştır. GzmB aspartik asitten sonraki spesifik zinciri parçalarken, GzmH hidrofobik, aromatik aminoasit kalıntılarından sonra parçalanmadan sorumlu kemotripsin benzeri tiyoester aktivitesine sahiptir. GzmB'nin hücre dışı substratları parçalaması ile

ilgili yapılan çalışmalarda GzmA gibi ECM proteoglikanlarını parçalayabildiği gösterilmiştir (Sayers ve ark., 1992). GzmB kondrositler tarafından sentezlenen proteoglikanlar ile özellikle kıkırdakta bol olarak bulunan ve bir proteoglikan olan aggrecanı da parçalamaktadır (Froelich ve ark., 1993, Runday ve ark., 2001). GzmB'nin aggrecan, fibronektin ve laminin'deki bölünme bölgeleri henüz tanımlanmamakla birlikte, vitronektin için primer bölünme bölgesinin Arg-Gly-Aspx (RGD) integrin bağlama bölgesi olduğu tespit edilmiştir (Buzza ve ark., 2005). Bu da GzmB'nin aspartaz aktivitesi ile tutarlıdır (Buzza ve Bird 2006). Fare GzmC'sinin ve insan GzmH'sinin homolog granzimler olduğu, kimotriptik aktiviteye sahip olduğu ve aromatik artıklardan sonra substratları parçaladığı belirtilmektedir. Bu granzimlerin her ikisi de programlanmış hücre ölümü-reaktif oksijen türleri üretimi, mitokondriyal membran potansiyeli dağılımı, kromatin yoğunlaşması ve nükleer parçalanma özellikleriyle kaspazdan bağımsız hücre ölümüne neden olabildikleri öne sürülmektedir. GzmC ve GzmH'nin farklı mitokondriyal yollar kullanabileceği ifade edilmektedir; GzmC'nin sitokrom c salınımını tetiklediği, GzmH'nin ise sitokrom c salınımına neden olmadığı bildirilmiştir (Johnson ve ark., 2003, Fellows ve ark., 2007). İnsan kromozomu 5q11-12 bölgesinde lokalize olmuş bir gen tarafından kodlanan GzmA ve K tripsin benzeri etkinliğe sahiptir. Fare, sıçan ve insanlarda bulunan ve Gzm3 olarak da bilinen GzmK, GzmA'nın kodlandığı yerlere yakın genlerde kodlanan bir triptazdır (Chowdhury ve Lieberman 2008). GzmK, GzmA'ya benzer olarak mitokondriyal disfonksiyon ile karakterize ve kaspazdan bağımsız hücre ölümünü etkin bir şekilde indükleyebilmektedir. Bununla birlikte, GzmA'dan farklı olarak önceden aşırı B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) ekspresyonuna maruz kalan hücrelerde sıçan GzmK'si tarafından indüklenen hücre ölümünün inhibe edildiği bildirilmiştir (MacDonald ve ark., 1999). GzmM'nin öncelikle doğuştan gelen bağışıklıkta işlev gördüğü öne sürülmektedir (Sayers ve ark., 2001).

Farelerde 10 granzim, ratlarda 7 granzim tanımlanmıştır. Fare granzim C-G'sinin insan granzimlerinden farklı olduğu bilinmektedir ve GzmH insana spesifik olarak görülmektedir (Fellows ve ark., 2007). Beş insan granziminin parçalama özellikleri bu proteazların her biri için farklıdır ve hücre ölümünü gerçekleştirmek için farklı efektör yolları kullanmaları muhtemeldir (Andrade ve ark., 2004, Kelly ve ark., 2004, Martinvalet ve ark., 2005, Lu ve ark., 2006, Fellows ve ark., 2007, Zhao ve ark., 2007, Hou ve ark., 2008). Bu granzimler farklı parçalama spesifiklerine sahip olmakla birlikte ekspre edildikleri sitotoksik hücre popülasyonları da farklıdır. GzmH ve M, yüksek oranda doğal katil hücrelerinde (NK) ekspre

edilirken, GzmM istirahat halindeki ve aktive olmuş CD4 ve CD8 hücrelerde ya düşük seviyelerde ekspre edilmekte ya da belirlenemeyecek düzeyde bulunmaktadır (Sedelies ve ark., 2004). Bunun aksine GzmB ve K, NK hücrelerde ekspre edilmezken, GzmB uyarılmış CD4 ve CD8 hücrelerde çok düşük seviyelerden yüksek seviyelere kadar bulunmaktadır. GzmK ise CD3+, CD8+ hücreler, NK T hücreler, T hücreler ve CD56'nın küçük bir alt grubu dahil T hücre hattının lenfosit subpopülasyonunda ekspre edilmektedir. Sonuçta, karışık bir dağılım gösteren GzmA ise istirahat halindeki NK hücreler ile CD4 ve CD8 fenotipleri olmak üzere uyarılmış T hücrelerinde de belirlenebilmektedir (Bade ve ark., 2005). Neden memeliler farklı sitotoksik hücre tiplerinde dağılmış bu kadar geniş proteolitik etkilere sahip granzim çeşitlerine gereksinim duymaktadırlar? Bunların hücrel ekspresyonlarına dayanarak GzmH ve M'nin muhtemelen immun yanıtın başlangıcında rol oynayabilecekleri, GzmB'nin ise adaptif immun sitotoksiste için daha spesifik olduğu söylenebilir. GzmA aksine hem başlangıç hem de adaptif immun yanıt açısından geniş etkinliğe sahipken, GzmK diğer enzimlerle kombine olarak muhtemelen spesifik T lenfosit subpopülasyonlarında önemli görevlere sahiptir. Bu bağlamda bütün insan granzimleri hedef hücre ölümünü indükleyebilmelerine rağmen, farklı hücrelerde ekspresyonları bu granzimlerin ilave spesifik aktivitelere sahip olabileceğini göstermektedir (Andrade ve ark., 2004, Kelly ve ark., 2004, Martinvalet ve ark., 2005). Granzimlerin bu etkileri doğrudan bu enzimleri kodlayan hücrelerin spesifik fonksiyonlarına bağlıdır. Bu nedenle granzimlerin hücrelere spesifik fonksiyonları bütün granzimlerin tek bir efektör hücre tipi tarafından ekspre edilmediği ve farklı olarak düzenlendikleri ile açıklanabilir. Farklı hücre popülasyonları tarafından farklı parçalama özellikleri ve özgünlüğü ile birden fazla granzimin mevcudiyeti tümöral oluşum ve viral enfeksiyonlara karşı savunmada konakçıya sinerjik fonksiyon yapma imkanı sağlar (Romero ve Andrade 2008).

Granzimlerin Apoptotik Fonksiyonları

Hedef hücrelerin tanınmasına yönelik olarak sitotoksik efektör hücreler, membran delici protein olan perforin ve granzimleri içeren sitotoksik granülleri salırlar. Perforin granzimlerin hedef hücreye kendilerinin ya da sinyallerinin girişine ve granzimlerin öldürücü hamlelerini yapmalarına imkan sağlar. Granzimlerce indüklenen ölüm süreci substrat parçalanmasına dayalı iki büyük proteolitik unsura sahiptir. Birincisi, esas olarak hedef hücrenin ölümü ile ilgili sınırlı sayıda intraselüler molekülün parçalanmasına bağlıdır. Bu grup moleküller hedef hücrenin apoptotik olarak öldürülmesinin farklı seviyelerini idare eden ve GzmB tarafından parçalanmış kaspaz, Bid ve ICAD

gibi molekülleri içerir (Lu ve ark., 2006, Zhao ve ark., 2007, Hou ve ark., 2008, Romero ve Andrade 2008). Bu bağlamda granzimler (GzmM hariç) tarafından kullanılan ilk adım mitokondriyal hasar olarak görülmektedir (Kelly ve ark., 2004). Bununla birlikte, GzmB ve muhtemelen GzmK tarafından Bid'in parçalanması yanında (Zhao ve ark., 2007, Romero ve Andrade 2008) GzmA ve H aracılı ölüm esnasında mitokondriyal yıkım için sinyal geçişini sağlayan ölüm efektör substratları tartışmalı olup tanımlanmayı beklemektedir (Fellows ve ark., 2007, Hou ve ark., 2008). İkincisi ise hücre siklusu, hücre tamiri ve protein sentezinde esas olan geniş bir intraselüler protein grubunun direk parçalanması ve inaktivasyonunu kapsar. Bu substratlar arasında GzmB ve A tarafından parçalananlar en iyi şekilde belirlenmişlerdir (Pasternack ve ark., 1991, Casciola-Rosen ve ark., 1999, Martinvalet ve ark., 2005, Loeb ve ark., 2006, Zhu ve ark., 2006, Hostetter ve ark., 2007). İlginç olarak, granzimlerin ölüm efektör moleküllerini parçalamalarına ilişkin mantıklı olarak tanımlanması yanında, ölüm harici efektör substratların parçalanması ve tanınmasının hangi fonksiyona yönelik olup olmadığı da tam olarak açıklanamamış değildir. Granzimler özgün ve farklı parçalama spesifitelerine sahip olmasına rağmen, granzimlerin bazı ortak özellik taşıyan molekül gruplarına sahip substratları tanımları ve aynı substratları parçalayabilmeleri de önemlidir (Romero ve Andrade 2008).

Bu gerçeklerle granzimler hücre ölümü sürecinde intraselüler patojenlerin yaşamları için gerekli esansiyel proteinleri tanıma ve parçalama kabiliyetine sahiptirler. İlginç olarak, granzimler intraselüler patojenlerin ortadan kaldırılması için kritik proteazlar olarak değerlendirilmekle birlikte bu enzimlerin öldürme aktivitelerinin patojenler tarafından doğal olarak enfekte olmayan hücrelerde de görülmesi önemlidir. Ayrıca, virüsler granzimler tarafından aktive edilen intraselüler ölüm yollarını çeşitli mekanizmalarla bloke edebildikleri için (Boya ve ark., 2004, Andrade ve ark., 2007, Romero ve Andrade 2008), hedef hücre ölümlerinin sadece granzimler tarafından kullanılan mekanizmalar ya da intraselüler patojenlerin çoğalmasının sınırlayan ilave non-apoptotik fonksiyonlarca gerçekleştirilip gerçekleştirilmediği belli değildir (Romero ve Andrade 2008).

Granzimlerin Non-apoptotik Fonksiyonları

İnsan adenovirüs tip 5 (Ad5) ve sitotoksik lenfositlerle ilgili yapılan çalışmalar virüsler ile granzimler arasındaki sıkı ilişkiler olduğunu ortaya koymuştur. Ad5 konakçı immün sistemi ve inflamatuvar cevapları kontrol etmeye yönelik birçok farklı mekanizma geliştirebilen bir patojen olup, genomunun yaklaşık üçte birini bu amaç için kullanabilmektedir (Romero ve Andrade 2008). Bu

virüs, CD81 sitotoksik lenfositler tarafından enfekte olmuş hücrelerin tanınmasını engelleyen ürünlerin yanı sıra interferonlar tarafından indüklenen antiviral yolakları bloke eden ve mitokondriyal ölüm reseptörleri ve p53 de dahil olmak üzere çoklu seviyelerde apoptozu indükleyen birçok inhibitörü kodlarken (Andrade ve ark., 2007), belirli bir GzmB inhibitörünü de kodlayabilmektedir (Andrade ve ark., 2001). Adenovirüsün (ve diğer birçok virüsün) enfekte olmuş hücredeki apoptotik yolakları kontrol ettiği göz önüne alındığında, muhtemelen sitotoksik hücreler tarafından indüklenen diğer antiviral mekanizmaların sınırlandırılmasında da önemli roller oynayabileceği düşünülmektedir. Örnek olarak Ad5 ile enfekte olmuş hedef hücrelerin sitotoksik hücreler tarafından öldürülmesi sırasında, gzmH'nin adenovirüs DBP'yi (viral DNA replikasyonu için mutlaka gerekli olan viral bir bileşen) doğrudan parçalayarak enfekte hedef hücredeki virüslerin bozulmasına neden olduğu ileri sürülmüştür (Romero ve Andrade 2008).

Ekstraselüler Non-apoptotik Granzim Substratları

GzmA, B ve K normal sağlıklı bireylerin plazmalarında düşük düzeylerde tespit edilmiştir. Sitotoksik hücre aracılı immün yanıtı açığa çıkaran çeşitli süreçlerde miktarları artmaktadır (Buzza ve Bird 2006). Bu bulgular hedef hücrenin tanınmasına kadar sitotoksik hücrelerden hem intraselüler hem de ekstraselüler olarak salındıklarını göstermektedir (Romero ve Andrade 2008). Bu bulgular ekstraselüler alanlarda granzimlerin rol oynadığı patolojik ve fizyolojik zinciri belirlemeye yönelik çalışmaları hızlandırmıştır. Bu fizyolojik zincir; lenfosit migrasyonunun arttırılması, tümör hücre migrasyonunun, hücre aktivasyonu ile sitokin üretiminin inhibisyonu, tümörün yaşaması ve muhtemel antiviral aktivitelerle ilgili yüzey reseptörlerinin parçalanması ya da hücrelerden ayrılması vasıtasıyla hücre ölümünün indüksiyonunu kapsamaktadır (Buzza ve Bird 2006). Virüslerin hücreyi enfekte edebilmeleriyle ilgili viral ya da konakçı yüzey proteinlerini parçalayıp parçalamadıkları ya da inaktive edip edemedikleri konusu hala açıklanması gereken noktalardan birisidir. Ekstraselüler granzimler, çölyak hastalığı, hipersensitiv pnömonitis, kronik alerjik astım ve artrit gibi otoimmün hastalıklar ya da kronik alerjik hastalıklarda olduğu gibi vasküler hastalıklarda da yangısal doku hasarı ile ilgili olabilirler (Buzza ve Bird 2006, Mulligan-Kehoe ve ark., 2007). (Tablo 1)

Non-sitotoksik hücreler tarafından granzim ekspresyonu

Granzimlerin ekspresyonu genellikle sitotoksik lenfositlerle sınırlı olmasına rağmen, yapılan çalışmalar GzmB'nin non-sitotoksik hücreler

tarafından daha yoğun olarak ekspre edildiğini gösterdi (Romero ve Andrade 2008). Ayrıca perforin yokluğunda plazmasitoid dentritik hücreler tarafından da GzmB ekspre edilmektedir (Buzza ve Bird 2006). İlginç olarak, doğal katil hücre özelliklerine sahip olabilmeleri için gerekli olan interferon- α ile monositlerden türeyen dentritik hücreler aynı zamanda GzmB ekspre ederler (Korthals ve ark., 2007). Bununla birlikte plasental trofoblastlarda ve gelişmekte olan spermatozoid benzeri reproduktif sistem hücrelerinde GzmB ekspresyonu tanımlanmıştır (Buzza ve Bird 2006). İlave olarak, primer insan meme kanseri, normal artiküler kondrositler ve romatoid artritli hastalardaki kondrositlerde artan

konsantrasyonlarda GzmB tespit edilmiştir (Horiuchi ve ark., 2003, Buzza ve Bird 2006). Son zamanlardaki çalışmalarda ultraviyole B ve ultraviyole A ışınlarından sonra keratinositlerde, mast hücrelerinde ve bazofillerde GzmB'nin varlığı belirlenmiştir (Tschopp ve ark., 2006, Hernandez-Pigeon ve ark., 2007, Strik ve ark., 2007). Ultraviyole B ışınlarına maruz kalan keratinositler ve artiküler kondrositler hariç nonsitotoksik hücreler tarafından GzmB ile birlikte perforinin ekspre edilmemesi bu hücrelerden salınan GzmB'nin daha çok ekstraselüler aktivitelere sahip olduğunu akla getirmektedir (Romero ve Andrade 2008). (Tablo 2)

Tablo 1: Granzim A ve B'nin ekstraselüler substratları ve fonksiyonları (Buzza ve Bird 2006, Loeb ve ark., 2006, Mulligan-Kehoe ve ark., 2007)

Table 1: Extracellular substrates of human gzmA and gzmB (Buzza ve Bird 2006, Loeb ve ark., 2006, Mulligan-Kehoe ve ark., 2007)

Granzim	Fonksiyon
1.Gzm B	
• Agrekan	Romatoid artritte eklem yıkımına katkıda bulunabilir
• Vibronektin,Fibronektin,Laminin	Hücre dışı matris remodeling aktivitesi. Endotel hücrelerinin anoiks indüksiyonu. Tümör hücresi yayılımı, migrasyon ve istilanın önlenmesi. Muhtemelen lenfosit göçü. Virüs bulaşıcılığının sınırlandırılması.
• NOTCH1/FGFR1	Tümör sağkalımı ile ilgili yüzey reseptörlerinin bölünmesiyle hücre ölümü
• Plazminojen	Sklerodermada gözlenen bazı vasküler defektlerden sorumlu tutulabilir.
2. Gzm A	
• Pro-ürokinaz plazminojen aktivatörü	Fibrin pıhtıları aracılığıyla lenfosit göçü.
• Hücre yüzey reseptörü	Fibroblast ve epitel hücreleri tarafından monosit aktivasyonu ve sitokin üretimi

(FGFR1, Fibroblast büyüme faktörü reseptörü 1; Gzm, granzim)

Tablo 2: Non-sitotoksik hücreler tarafından GrzB'nin ekspresyonu. (Horiuchi ve ark., 2003, Buzza ve Bird 2006, Tschopp ve ark., 2006,).

Table 2: Expression of gzmB by non-cytotoxic cells (Horiuchi ve ark., 2003, Buzza ve Bird 2006, Tschopp ve ark., 2006,).

Granzim	Fonksiyon
• Bazofil	Alerjik yangı mediatörü
• Mast hücreleri	Hücre ölümü, vasküler geçirgenliğin artması Lökosit ekstrasvazasyonu
• Keratinositler	Sitotoksikite ve hücre ayrılmasının indüksiyonu
• Plasental trofoblastlar	Gelişmekte olan germ hücrelerinin migrasyonunu kolaylaştırmak için hücre dışı matris bileşenlerin hidroliz edilmesi ve doğum sırasında plasentada hücre dışı matriksin yeniden modellenmesi
• Eklem kıkırdağının kondrositleri	Ekstraselüler matriksin yeniden modellenmesi
• Monosit türevi dentrik hücreler	Sitotoksikite

SONUÇ

Transforme ve enfekte hücrelerin etkin bir şekilde sitotoksik lenfositler tarafından temizlenmesi, konakçının antipatojen ve antitümör aktivitesini bloke edebilen tümör inhibitörleri ve patojenleri bypass edebilme kabiliyetine bağlıdır. Patojenler ve tümörler çeşitli inhibitör mekanizmalarla apoptozisi bloke edebildikleri için, sitotoksik hücrelerin virüs ve tümör yayılmasını sınırlandırmaya yönelik apoptozisten bağımsız olarak kullandıkları yolların varlığı katil hücrelerin antipatojenik ve antitümöral fonksiyonlarını destekleyici olarak görülebilir.

KAYNAKLAR

- Adrain C, Murphy BM, Martin SJ.** Molecular ordering of the caspase activation cascade initiated by the cytotoxic T lymphocyte/natural killer (CTL/NK) protease granzyme B. 2005; *Journal of Biological Chemistry*, 280, 6, 4663-4673.
- Andrade F, Bull HG, Thornberry NA, Ketner GW, Casciola-Rosen LA, Rosen A.** Adenovirus L4-100K assembly protein is a granzyme B substrate that potently inhibits granzyme B-mediated cell death. 2001; *Immunity*, 14, 6, 751-761.
- Andrade F, Casciola-Rosen LA, Rosen A.** Granzyme B-induced cell death. 2004; *Acta haematologica*, 111, 1-2, 28-41.
- Andrade F, Casciola-Rosen LA, Rosen A.** A novel domain in adenovirus L4-100K is required for stable binding and efficient inhibition of human granzyme B: possible interaction with a species-specific exosite. 2003; *Molecular and cellular biology*, 23, 17, 6315-6326.
- Andrade F, Fellows E, Jenne DE, Rosen A, Young C.** Granzyme H destroys the function of critical adenoviral proteins required for viral DNA replication and granzyme B inhibition. 2007; *The EMBO Journal*, 26, 8, 2148-2157.
- Bade B, Boettcher HE, Lohrmann J, Hink-Schauer C, Bratke K, Jenne DE, Virchow Jr JC, Luttmann W.** Differential expression of the granzymes A, K and M and perforin in human peripheral blood lymphocytes. 2005; *International immunology*, 17, 11, 1419-1428.
- Beresford PJ, Xia Z, Greenberg AH, Lieberman J.** Granzyme A loading induces rapid cytolysis and a novel form of DNA damage independently of caspase activation. 1999; *Immunity*, 10, 5, 585-595.
- Boya P, Pauleau A-L, Poncet D, Gonzalez-Polo R-A, Zamzami N, Kroemer G.** Viral proteins targeting mitochondria: controlling cell death. 2004; *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1659, 2, 178-189.
- Brunner G, Simon MM, Kramer MD.** Activation of pro-urokinase by the human T cell-associated serine proteinase HuTSP-1. 1990; *FEBS letters*, 260, 1, 141-144.
- Buzza MS, Bird PI.** Extracellular granzymes: current perspectives. 2006; *Biological chemistry*, 387, 7, 827-837.
- Buzza MS, Zamurs L, Sun J, Bird CH, Smith AI, Trapani JA, Froelich CJ, Nice EC, Bird PI.** Extracellular matrix remodeling by human granzyme B via cleavage of vitronectin, fibronectin, and laminin. 2005; *Journal of Biological Chemistry*, 280, 25, 23549-23558.
- Casciola-Rosen L, Andrade F, Ulanet D, Wong WB, Rosen A.** Cleavage by granzyme B is strongly predictive of autoantigen status. 1999; *Journal of Experimental Medicine*, 190, 6, 815-826.
- Casciola-Rosen L, Garcia-Calvo M, Bull HG, Becker JW, Hines T, Thornberry NA, Rosen A.** Mouse and human granzyme B have distinct tetrapeptide specificities and abilities to recruit the bid pathway. 2007; *Journal of Biological Chemistry*, 282, 7, 4545-4552.
- Chowdhury D, Lieberman J.** Death by a thousand cuts: granzyme pathways of programmed cell death. 2008; *Annual review of immunology*, 26, 389.
- Darmon AJ, Ley TJ, Nicholson DW, Bleackley RC.** Cleavage of CPP32 by granzyme B represents a critical role for granzyme B in the induction of target cell DNA fragmentation. 1996; *Journal of Biological Chemistry*, 271, 36, 21709-21712.
- Darmon AJ, Nicholson DW, Bleackley RC.** Activation of the apoptotic protease CPP32 by cytotoxic T-cell-derived granzyme B. 1995; *Nature*, 377, 6548, 446-448.
- Fellows E, Gil-Parrado S, Jenne DE, Kurschus FC.** Natural killer cell-derived human granzyme H induces an alternative, caspase-independent cell-death program. 2007; *Blood*, 110, 2, 544-552.
- Froelich CJ, Zhang X, Turbov J, Hudig D, Winkler U, Hanna WL.** Human

- granzyme B degrades aggrecan proteoglycan in matrix synthesized by chondrocytes. 1993; *The journal of immunology*, 151, 12, 7161-7171.
- Hernandez-Pigeon H, Jean C, Charruyer A, Haure M-J, Baudouin C, Charveron M, Quillet-Mary A, Laurent G.** UVA Induces Granzyme B in Human Keratinocytes through MIF IMPLICATION IN EXTRACELLULAR MATRIX REMODELING. 2007; *Journal of Biological Chemistry*, 282, 11, 8157-8164.
- Horiuchi K, Saito S, Sasaki R, Tomatsu T, Toyama Y.** Expression of granzyme B in human articular chondrocytes. 2003; *The Journal of rheumatology*, 30, 8, 1799-1810.
- Hostetter DR, Loeb CR, Chu F, Craik CS.** Hip is a pro-survival substrate of granzyme B. 2007; *Journal of Biological Chemistry*, 282, 38, 27865-27874.
- Hou Q, Zhao T, Zhang H, Lu H, Zhang Q, Sun L, Fan Z.** Granzyme H induces apoptosis of target tumor cells characterized by DNA fragmentation and Bid-dependent mitochondrial damage. 2008; *Molecular immunology*, 45, 4, 1044-1055.
- Johnson H, Scorrano L, Korsmeyer SJ, Ley TJ.** Cell death induced by granzyme C. 2003; *Blood*, 101, 8, 3093-3101.
- Kaiserman D, Bird CH, Sun J, Matthews A, Ung K, Whisstock JC, Thompson PE, Trapani JA, Bird PI.** The major human and mouse granzymes are structurally and functionally divergent. 2006; *J Cell Biol*, 175, 4, 619-630.
- Kelly JM, Waterhouse NJ, Cretney E, Browne KA, Ellis S, Trapani JA, Smyth MJ.** Granzyme M mediates a novel form of perforin-dependent cell death. 2004; *Journal of Biological Chemistry*, 279, 21, 22236-22242.
- Korthals M, Safaian N, Kronenwett R, Maihöfer D, Schott M, Papewalis C, Blanco ED, Winter M, Czibere A, Haas R.** Monocyte derived dendritic cells generated by IFN- α acquire mature dendritic and natural killer cell properties as shown by gene expression analysis. 2007; *Journal of translational medicine*, 5, 1, 46.
- Loeb CR, Harris JL, Craik CS.** Granzyme B proteolyzes receptors important to proliferation and survival, tipping the balance toward apoptosis. 2006; *Journal of Biological Chemistry*, 281, 38, 28326-28335.
- Lord SJ, Rajotte RV, Korbitt GS, Bleackley RC.** Granzyme B: a natural born killer. 2003; *Immunological reviews*, 193, 1, 31-38.
- Lu H, Hou Q, Zhao T, Zhang H, Zhang Q, Wu L, Fan Z.** Granzyme M directly cleaves inhibitor of caspase-activated DNase (CAD) to unleash CAD leading to DNA fragmentation. 2006; *The Journal of Immunology*, 177, 2, 1171-1178.
- MacDonald G, Shi L, Velde CV, Lieberman J, Greenberg AH.** Mitochondria-dependent and-independent regulation of granzyme B-induced apoptosis. 1999; *The Journal of experimental medicine*, 189, 1, 131-144.
- Martinvalet D, Zhu P, Lieberman J.** Granzyme A induces caspase-independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis. 2005; *Immunity*, 22, 3, 355-370.
- Mulligan-Kehoe MJ, Drinane MC, Mollmark J, Casciola-Rosen L, Hummers LK, Hall A, Rosen A, Wigley FM, Simons M.** Antiangiogenic plasma activity in patients with systemic sclerosis. 2007; *Arthritis & Rheumatology*, 56, 10, 3448-3458.
- Pasternack M, Bleier KJ, McInerney TN.** Granzyme A binding to target cell proteins. Granzyme A binds to and cleaves nucleolin in vitro. 1991; *Journal of Biological Chemistry*, 266, 22, 14703-14708.
- Romero V, Andrade F.** Non-apoptotic functions of granzymes. 2008; *HLA*, 71, 5, 409-416.
- Ronday H, Van Der Laan W, Tak P, de Roos J, Bank R, TeKoppele J, Froelich C, Hack C, Hogendoorn P, Breedveld F.** Human granzyme B mediates cartilage proteoglycan degradation and is expressed at the invasive front of the synovium in rheumatoid arthritis. 2001; *Rheumatology*, 40, 1, 55-61.
- Sayers T, Wiltrout T, Sowder R, Munger W, Smyth M, Henderson L.** Purification of a factor from the granules of a rat natural killer cell line (RNK) that reduces tumor cell growth and changes tumor morphology. Molecular identity with a granule serine protease (RNKP-1). 1992; *The Journal of Immunology*, 148, 1, 292-300.
- Sayers TJ, Brooks AD, Ward JM, Hoshino T, Bere WE, Wiegand GW, Kelley JM,**

- Smyth MJ.** The restricted expression of granzyme M in human lymphocytes. 2001; *The Journal of Immunology*, 166, 2, 765-771.
- Sayers TJ, Wiltrout T, Sowder R, Munger W, Smyth M, Henderson L.** Purification of a factor from the granules of a rat natural killer cell line (RNK) that reduces tumor cell growth and changes tumor morphology. Molecular identity with a granule serine protease (RNKP-1). 1992; *The Journal of Immunology*, 148, 1, 292-300.
- Sedelies KA, Sayers TJ, Edwards KM, Chen W, Pellicci DG, Godfrey DI, Trapani JA.** Discordant regulation of granzyme H and granzyme B expression in human lymphocytes. 2004; *Journal of Biological Chemistry*, 279, 25, 26581-26587.
- Shresta S, Graubert TA, Thomas DA, Raptis SZ, Ley TJ.** Granzyme A initiates an alternative pathway for granule-mediated apoptosis. 1999; *Immunity*, 10, 5, 595-605.
- Simon M, Prester M, Nerz G, Kramer M, Fruth U.** Release of biologically active fragments from human plasma-fibronectin by murine T cell-specific proteinase 1 (TSP-1). 1988; *Biological chemistry Hoppe-Seyler*, 369, 107-112.
- Strik MC, de Koning PJ, Kleijmeer MJ, Bladergroen BA, Wolbink AM, Griffith JM, Wouters D, Fukuoka Y, Schwartz LB, Hack CE.** Human mast cells produce and release the cytotoxic lymphocyte associated protease granzyme B upon activation. 2007; *Molecular immunology*, 44, 14, 3462-3472.
- Suidan HS, Clemetson KJ, Brown-Luedi M, Niclou SP, Clemetson JM, Tschopp J, Monard D.** The serine protease granzyme A does not induce platelet aggregation but inhibits responses triggered by thrombin. 1996; *Biochemical Journal*, 315, 3, 939-945.
- Trapani JA, Sutton VR.** Granzyme B: pro-apoptotic, antiviral and antitumor functions. 2003; *Current opinion in immunology*, 15, 5, 533-543.
- Tschopp CM, Spiegl N, Didichenko S, Lutmann W, Julius P, Virchow JC, Hack CE, Dahinden CA.** Granzyme B, a novel mediator of allergic inflammation: its induction and release in blood basophils and human asthma. 2006; *Blood*, 108, 7, 2290-2299.
- Zhao T, Zhang H, Guo Y, Fan Z.** Granzyme K directly processes bid to release cytochrome c and endonuclease G leading to mitochondria-dependent cell death. 2007; *Journal of Biological Chemistry*, 282, 16, 12104-12111.
- Zhu P, Zhang D, Chowdhury D, Martinvalet D, Keefe D, Shi L, Lieberman J.** Granzyme A, which causes single-stranded DNA damage, targets the double-strand break repair protein Ku70. 2006; *EMBO reports*, 7, 4, 431-437.