

Apoptoz ve Yaşlanma

Doç.Dr. Pınar AKSOY SAĞIRLI

- Apoptoz

Apoptoz nedir?

Apoptoz nasıl gerçekleşir?

Apoptoz

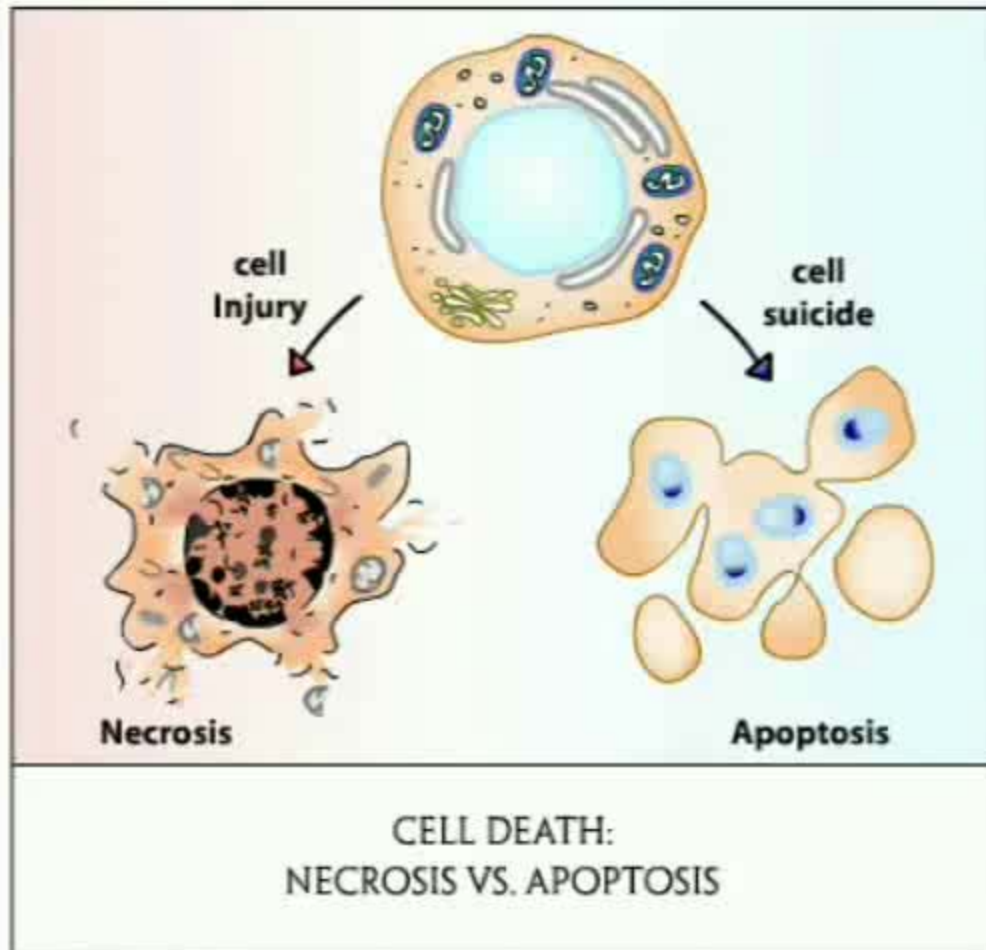
Tanımı,

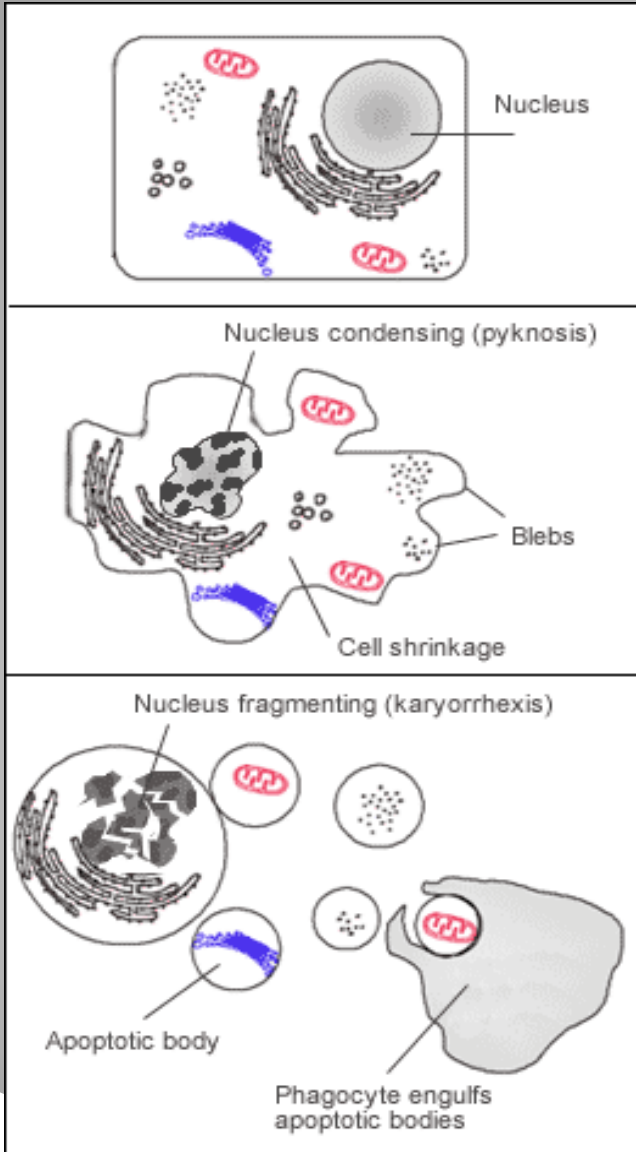
Nekroz belirtileri olmaksızın bir dizi biyokimyasal ve morfolojik değişiklikler ile birlikte gözlenen Programlanmış hücre ölümüdür.

Nekroz pasif hücre ölümüdür. Başka bir deyişle Akut hücresel bir hasar sonucu gelişen travmatik bir hücre ölümüdür.

Apoptoz ise nekrozdan farklı olarak RNA, protein sentezi, ve yeni enzim aktiviteleri gibi belirli bir moleküler işlemler serisini gerektiren aktif bir olaydır ve aynı zamanda organizmanın yaşam döngüsü için gerekli ve yararlıdır.

Örneğin gelişen bir embriyoda insan parmaklarının farklılaşması parmaklar arasındaki hücrelerin apoptoz başlatması gerekir ki parmaklar birbirinden ayrılabilsin. Nekroz'dan farklı olarak, apoptoza uğrayan bir hücre küçülerek ölür.





Apoptozda gerçekleşen hücresel değişiklikler:

- Membranda kabarcıklar oluşur (blebbing)
- Hücrenin büzülerek küçülmesi (Cell shrinkage)
- Çekirdeğin parçalara ayrılması (Nuclear fragmentation)
- Kromatin yoğunlaşması (Chromatin condensation)
- Kromozomal DNA'nın parçalara ayrılması (Chromosomal DNA fragmentation)

Apoptoz nasıl gerçekleşir?

Apoptozis sinyali alan bir hücrenin kromatini yoğunlaşmaya başlar. Benzer bir şekilde sitoplazma da yoğunlaşır ve hücrenin boyutları küçülmeye başlar. Bir süre sonra hücre apoptotik cisimcik olarak adlandırılan daha küçük parçalara bölünür. Bu parçalara Apoptotik cisimcikler de denilir. Apoptotik cisimcikler; yüzeylerinde yeni sinyal verici yapılar ortaya çıkarır ve bu sinyalin uyarısı ile yakınlarındaki hücre tarafından (bunlar genelde histiyosit'lerdir) fagositte edilerek ortadan kaldırılır.

Apoptozun organizmadaki temel fonksiyonları şunlardır:

Embriyonal gelişim, örneğin insanlarda parmak aralarının şekillenmesi ya da göz kapakları arasındaki boşluğun şekillenmesi. Kadınlarda menstruel siklusda endometrial hücrelerinin (uterus'un iç katmanındaki epiteller) yıkımı.

DNA hasarı alan hücrelerin yıkımı.

Tümöral hücrelerin ortadan kaldırılması.

Virus ile infekte olmuş hücrelerin ortadan kaldırılması.

Apotozu başlatan uyaranlar:

Oksidatif stres

Mitokondriden sitokrom c salınması

Kaspaz proteazlarının aktivasyonu

Endonükleazların aktivasyonu

Bazı eksternal uyaranlar

Apoptoz 3 aşamada gerçekleşir

1. Başlangıç (Initiation)

intrinsik yol

ekstrinsik yol

2. İşlem (Execution)

DNA fragmentasyonu

Hücre iskeletinin fragmentasyonu

3. Fagositozis (Phagocytosis) (blebs)

1.Hücre ölümünün başlaması (initiation):

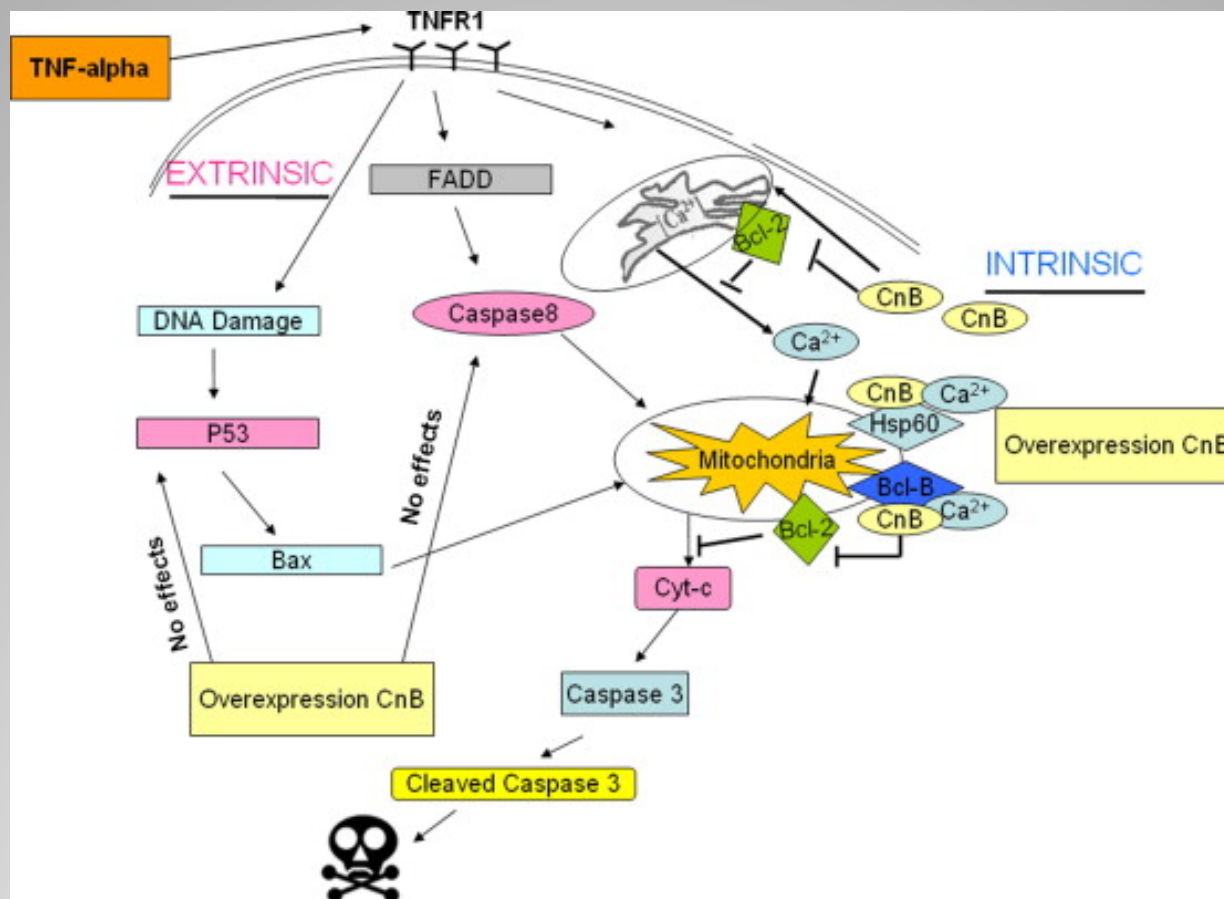
İntrinsic (İntraselüler) veya Ekstrinsic (ekstraselüler) kaynaklı olabilirler

İntraselüler sinyaller,

Stres sonucu gerçekleşir ve hücreyi intihara sürükler.

Glukokortikoidler, Isı, Radyasyon, Viral enfeksiyon, Hipoksi, Artmış hücre içi Ca^{+2} kons. Bu sinyaller sonucu geri dönüşümsüz DNA hasarına neden olurlar ki bu da bazı proteinlerin aktivasyonuna ve dolayısıyla da p53 gibi bazı spesifik tümör supressor genlerinin aktivasyonu gerçekleşir.

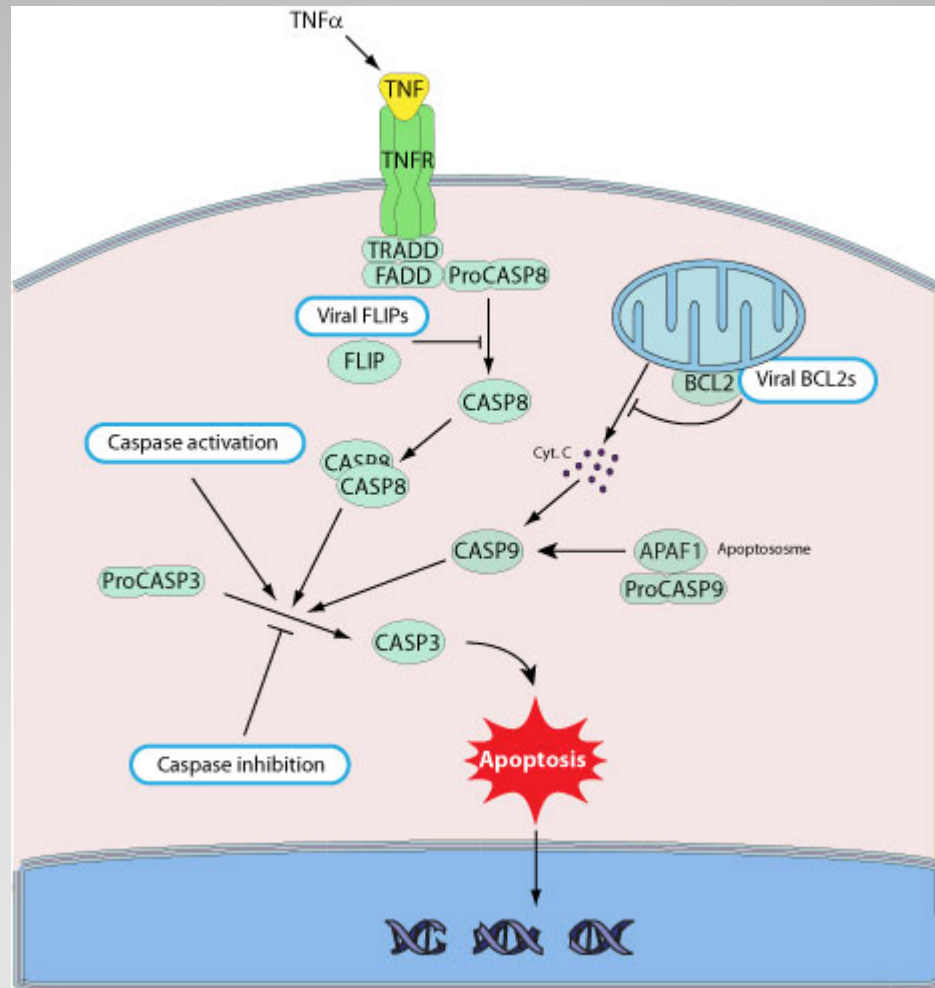
- Bu aktivasyon mitokondri membranı üzerinde yer alan Bax ailesini uyararak mitokondri zarının geçirgenliğini değiştirerek Ca^{+2} iyonları, H^{+} ve diğer bazı proteinlerin sitosole geçmesine neden olur. Sitosole geçen sitokrom c, APAF ile birleşerek prokaspaz 9'a bağlanır ve onu aktifler. Aktif kaspaz 9, kaspaz kaskadını aktifleyerek apoptozu başlatır.



Jinbo Cheng, Wei Tang, Zhenyi Su, Junxia Guo, Li Tong, Qun Wei. Cancer Letters. 2012; 321(2):169–178.

Ekstraselüler sinyaller etkilerini göstermek için ya plazma zarını geçerler yada hücre yüzeyi reseptörlerini etkileyerek ikincil habercileri aktiflerler bu sayede hücre içine sinyal iletilir; Toksinler, Hormonlar, Büyüme faktörleri, Nitrik oksit, Sitokinler.

En yaygın ekstraselüler sinyal TNF α 'dır. Tümör hücreleri tarafından yoğun bir şekilde üretilir. TNF α hücre yüzeyindeki reseptörüne bağlanarak hücrenin sitosol kısmında bulunan ölüm bölgesini aktifler (death domain) bu aktivasyon ile TRADD ardından FADD proteinlerinin bu komplekse bağlanmasına ve son olarak prokaspaz 8'e bağlanarak aktif hale geçmesine sebep olur. Aktif kaspaz 8, kaspaz kaskadını aktifleyerek apoptozu başlatır.



Apoptoz sürecindeki proteinleri;

1. *Mitokondriyal regülasyon*
2. *Direkt sinyal iletimine*

Katılanlar olmak üzere de ikiye ayırmak mümkündür.

1. Mitokondriyal regülasyon

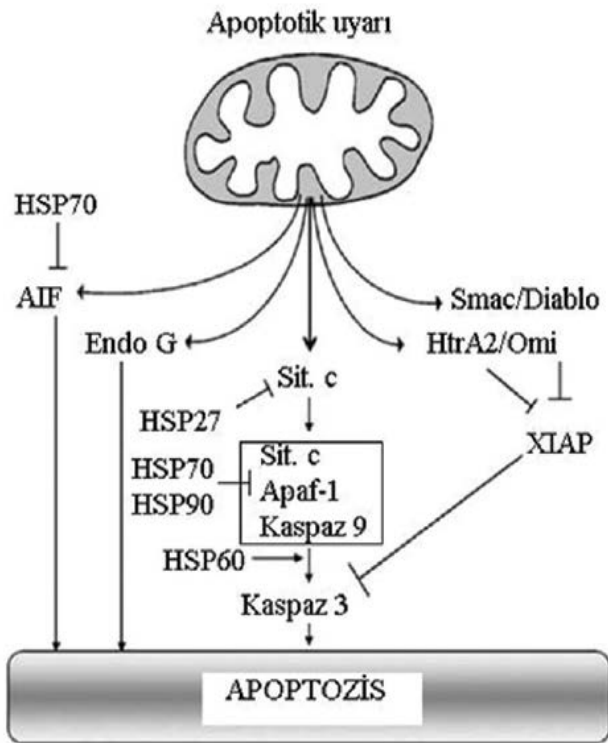
Mitokondri çok hücreli organizmaların yaşamını sürdürebilmesi için şarttır. Mitokondrisiz, hücrenin aerobik olarak solunumu sona erer ve ölür. Mitokondriyi hedefleyen apoptotik proteinler farklı şekillerde etkilerini gösterirler. Bu tip proteinler ya membranlarda porlar oluşturarak yada membranın geçirgenliğini arttırarak mitokondrinin şişmesine neden olurlar ve böylece apoptotik efektörler açığa çıkar. Bu proteinler intrinsik yol ile çok yakından ilişkilidirler. Tümör oluşumu da daha sıklıkla intrinsik yol aracılığıyla olmaktadır. Çünkü bu yolda yer alanlar daha hassastırlar.

"Mitochondrial Outer Membrane Permeabilization Pore (MOMP)" olarak ta bilinen **MAC** (mitochondrial apoptosis-induced channel), birçok protein tarafından kontrol edilir. Bu proteinler, bir apoptotik gen ailesi olan **Bcl-2** ailesidir. Bu proteinler apoptoz üzerindeki inhibitör etkilerini direk olarak MAC/MOMP etkileyerek gösterirler. **Bax** ve/veya **Bak** por oluştururken Bcl-2, Bcl-xL veya Mcl-1 por oluşumunu inhibe eder.

Bcl-2 ailesi, antiapoptotik ve proapoptotik üyelerden oluşan ve apoptozu düzenlemede en önemli role sahip olan onkoprotein grubudur. Birbirine zıt etkili çalışan iki gruptan oluşur.

1. **Antiapoptotik (Bcl-2, Bcl-X_L), sit c'nin salınımını engellerler**
2. **Proapoptotik (Bax, Bak, Bid, Bad, Bim), sit c'nin sitoplazmaya salınımını indüklerler**

Hücrelerin apoptotik uyarıya hassaslığı proapoptotik ve antiapoptotik Bcl proteinleri arasındaki dengeye bağlıdır.



Mitokondriden salınan apoptotik faktörler:

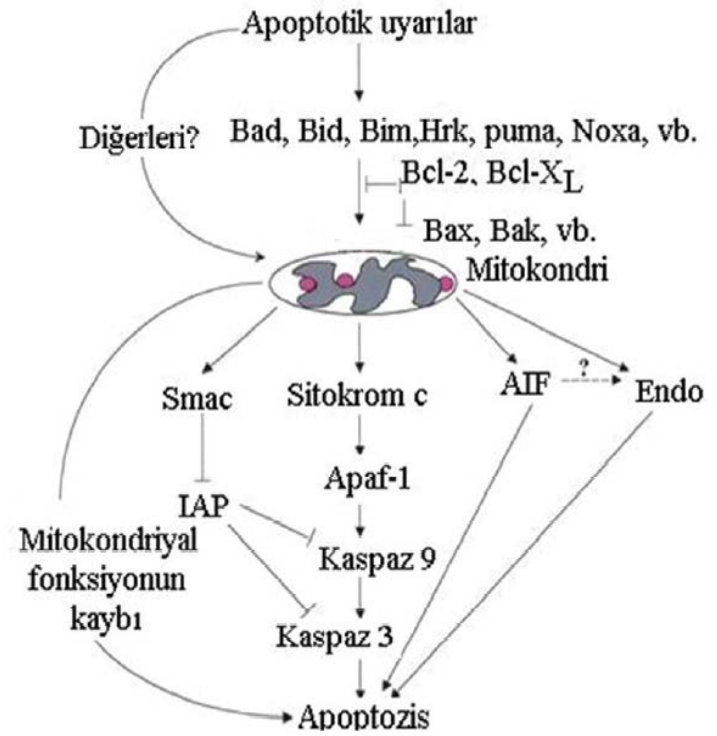
- Sitokrom c
- AIF
- Endonükleaz G
- Apoptozis protein inhibitörleri (IAP)

SMAC/DIABLO (IAP'a bağlanır)

HtrA2/Omi (IAP'a bağlanır)

Sitokrom c:

Elektron transport zincirine ve oksidatif fosforilasyona katılır. Sağlıklı hücrelerde, mitokondride membranlar arası boşlukta yer alır. Sitotoksik ilaçlar, reaktif oksijen türleri, ve DNA hasarı gibi değişik hücresel stresler, sit c'nin salınımını harekete geçirir. Sit c salınımı, Bcl-2 ailesi üyeleri ile düzenlenir. Sit c, Apototic proteaz aktive-edici faktör-1 (Apaf-1)'e bağlanarak onu aktive eder ardından komplekse ATP katılır. Oluşan kompleks pro-kaspaz-9'a bağlanarak apoptozom adı verilen protein kompleksini oluşturular. Ardından prokaspaz aktif şekli olan kaspaz-9'a dönüşerek kaspaz-3'ü aktive eder ve diğer efektör kaspazların aktivasyonuna yol açarak dönüşümsüz hücre intiharına yol açan kaspaz kaskadı başlamış olur.



2. Direkt sinyal iletimi

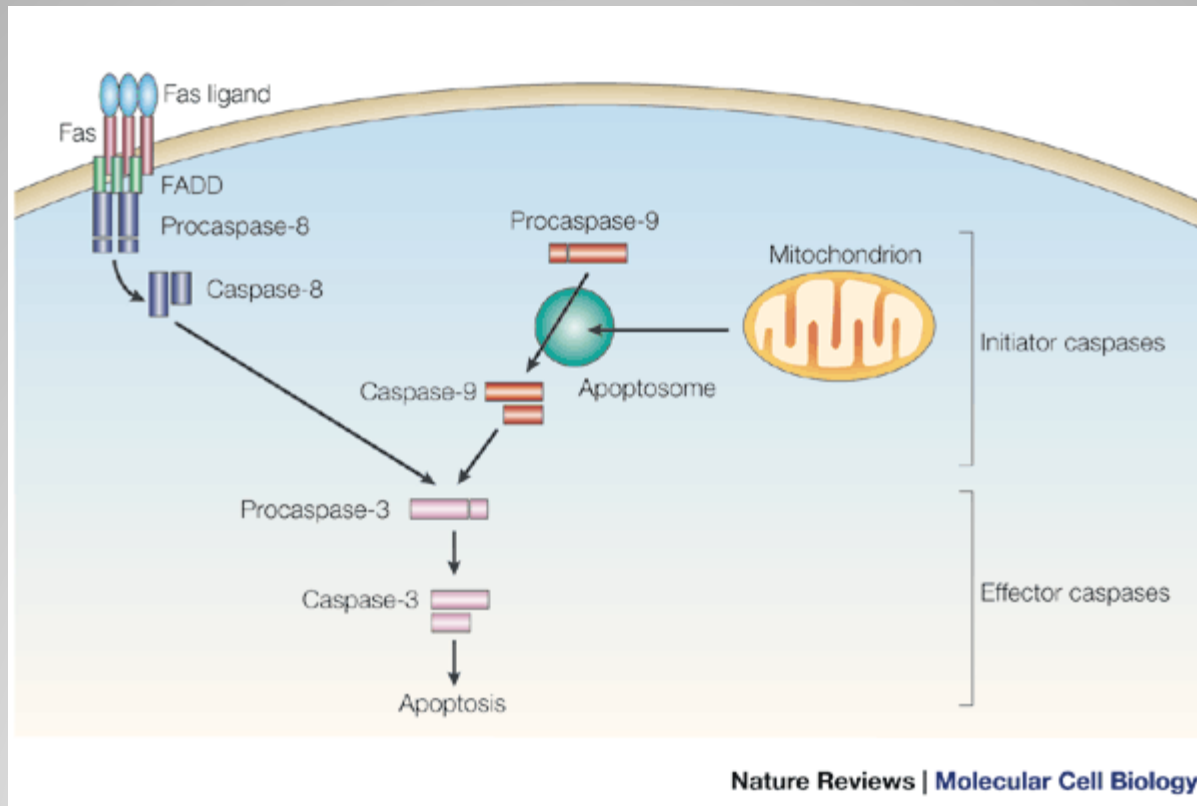
Memelilerde apoptozu direk olarak başlatan mekanizmalar ile ilgili 2 teori ileri sürülmektedir.

- 1- TNF-indükleyici model
- 2- Fas-Fas ligand-aracılı model

} Her ikisinde TNF reseptör (TNFR) ailesini etkiler ve ekstrinsik yolda yer alırlar.

Kaspazlar

Kaspazlar apoptotik sinyal iletiminde merkezi bir rol oynarlar. Son derece konservatif proteinlerdir ve sistein bağı aspartat spesifik proteazlardır. İki tipi mevcuttur; başlatıcı (initiator) kaspazlar (kaspaz 8, 10, 9, 2) ve efektör (effector) kaspazlar (3,7, 6). Başlatıcı kaspazların aktivasyonu için, spesifik oligomerik adaptör bir proteinin bağlanmasına ihtiyaç vardır. Proteolitik ayrılma ile aktif başlatıcı kaspazlar oluşur ve ardından kaspazlar aktive olur. Aktif efektör kaspazlar da intraselüler proteinlerin degradasyonunu sağlayarak hücre ölüm programını başlatırlar.



Apoptoz 3 aşamada gerçekleşir

1. Başlangıç (Initiation)

intrinsik yol

ekstrinsik yol

2. İşlem (Execution)

DNA fragmentasyonu

Hücre iskeletinin fragmentasyonu

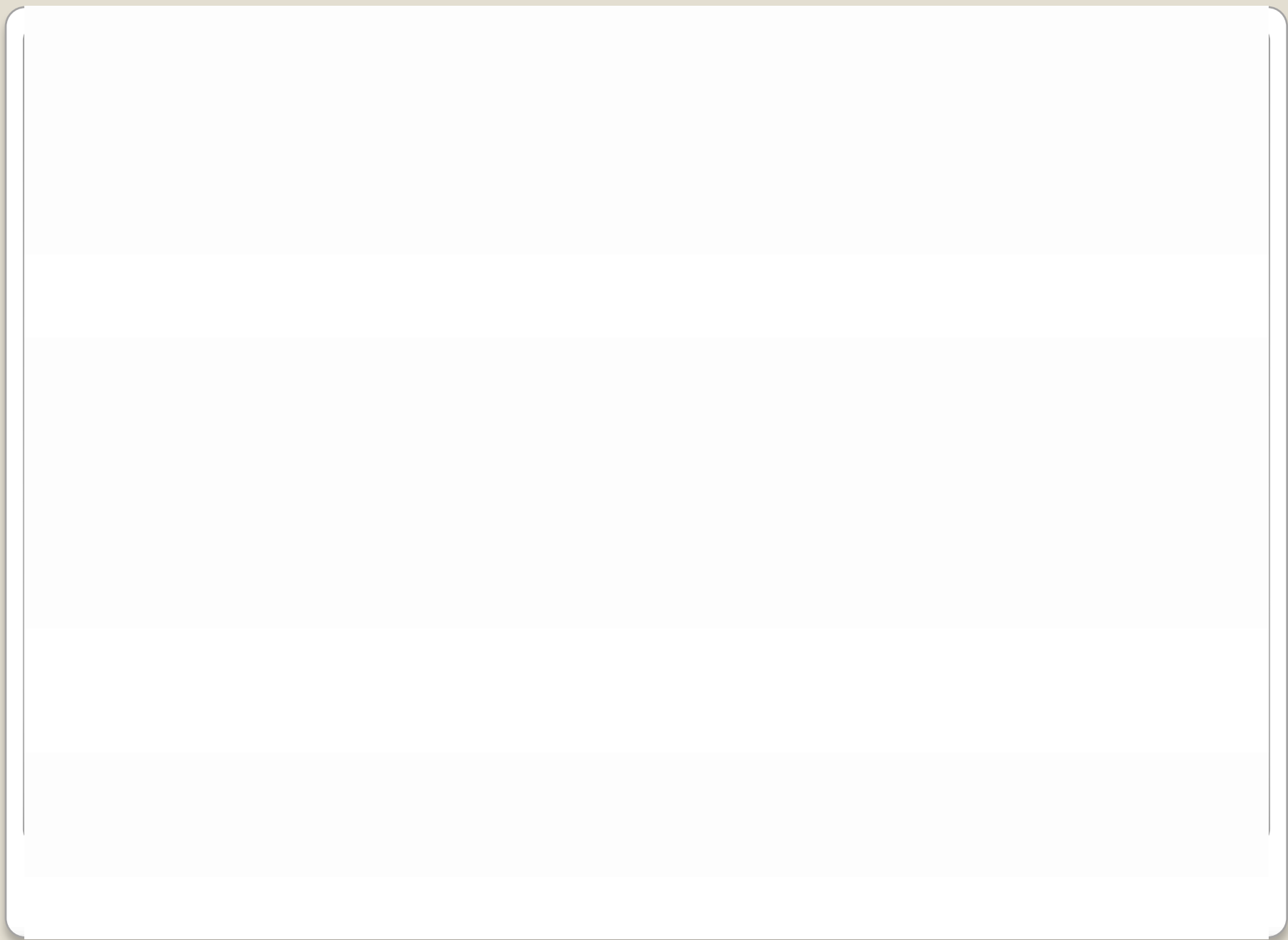
3. Fagositozis (Phagocytosis) (blebs)

2. İşlem (Execution)

Hücre apoptoz uyarısını aldıktan sonra proteolitik kaspazlar tarafından aktive olan hücresel organellerin degradasyon prosesi başlar. Bleb'lerin oluşumu, DNA fragmentasyonu ve hücre iskeleti fragmentasyonu bu fazda gerçekleşir

3. Fagositosis (Phagocytosis) (blebs)

Apoptotik veziküllere (oluşan bleb'ler) ayrılan hücre bu fazda fagosit olur.



Apoptoz ve yaşılanma

- Yaşılanma olayını açıklamaya çalışan çok sayıda teoriler olmasına rağmen, mekanizması halen tam olarak tanımlanamamıştır.
- Yapılan araştırmalar neticesinde apoptotik düzenlenmedeki bozuklukların, bu olayda rol oynayabileceği anlaşılmıştır.

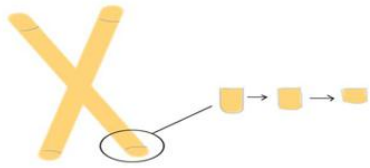
A. Programlanma teorileri

- 1.** Programlı yaşam süresi teorisi
- 2.** Endokrin teori
- 3.** İmmünolojik teori

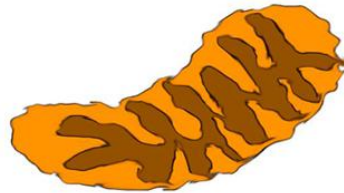
B. Hasar ya da hata temeline dayanan yaşlanma teorileri

- 1.** Yıpranma ve bozulma teorisi
- 2.** Yaşam hızı teorisi
- 3.** Çapraz bağlanma teorisi
- 4.** Serbest radikaller
- 5.** DNA hasarı teorisi
- 6.** Telomer Teorisi

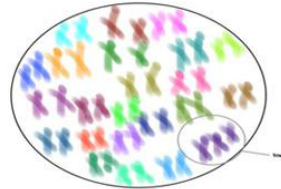




Telomere attrition



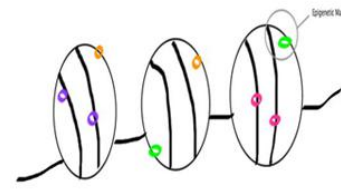
Mitochondrial dysfunction



Aneuploidy

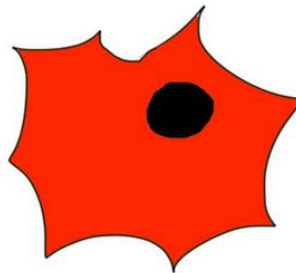
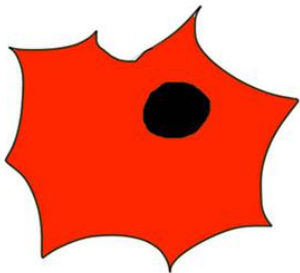


DDR

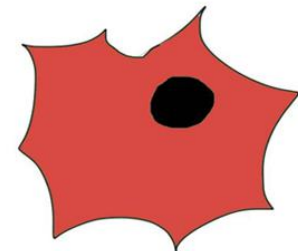


Epigenetic alterations

Senescence

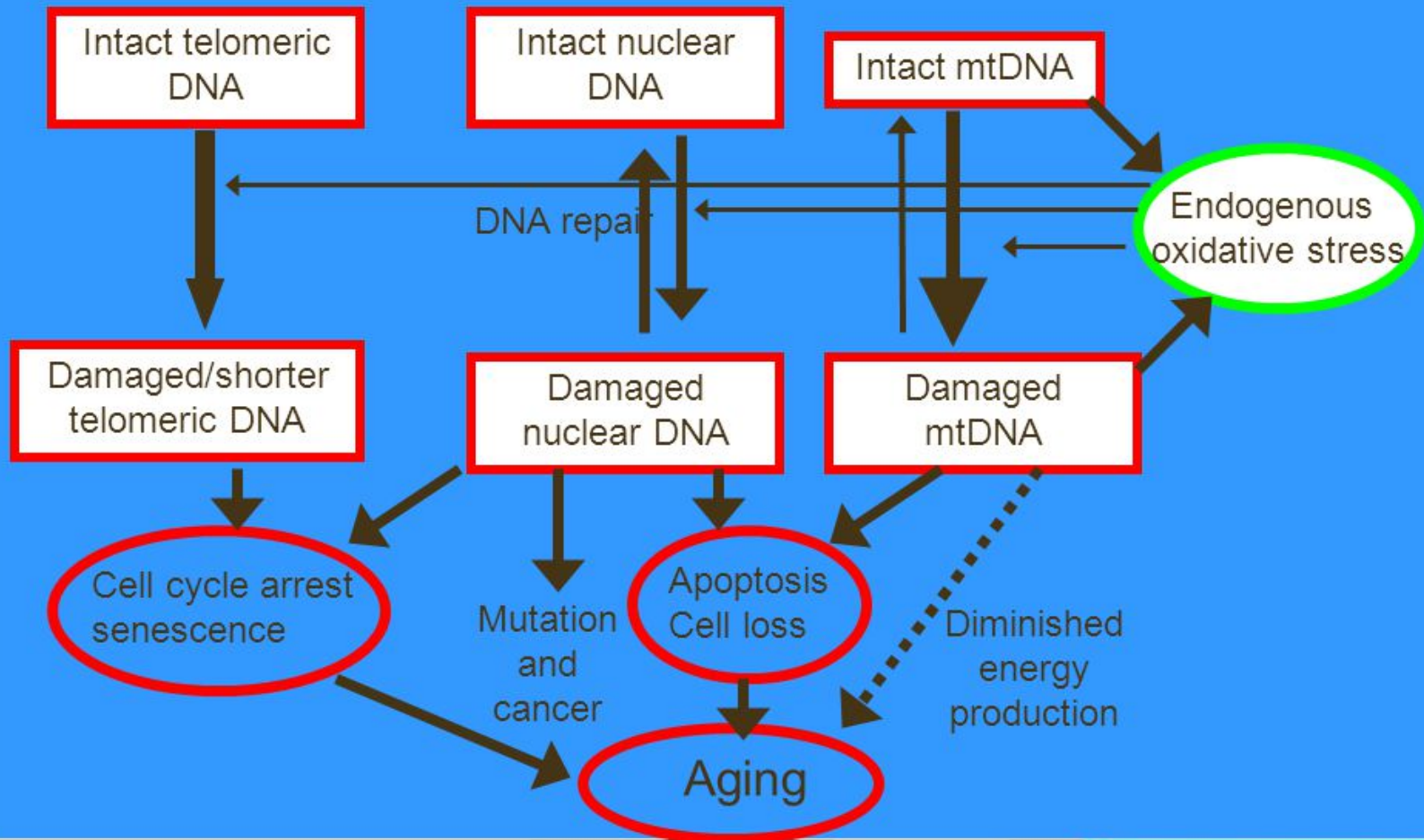


Loss of proliferation and acquisition of secretory phenotype in dividing cells



Acquisition of secretory phenotype in non-dividing cells

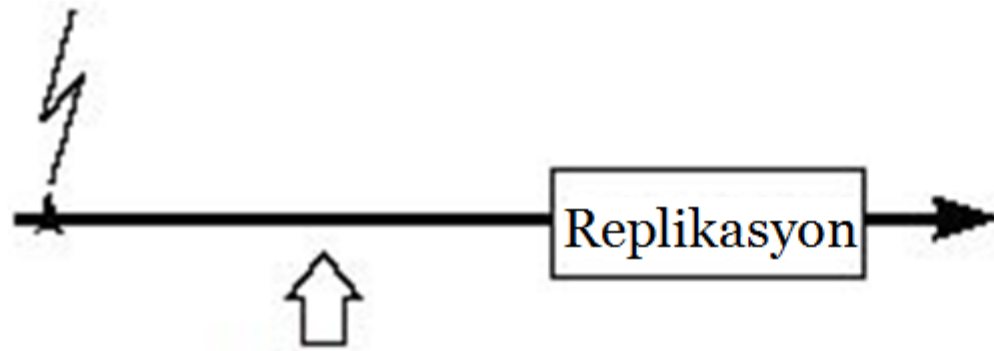
Genomic Alterations with Aging:



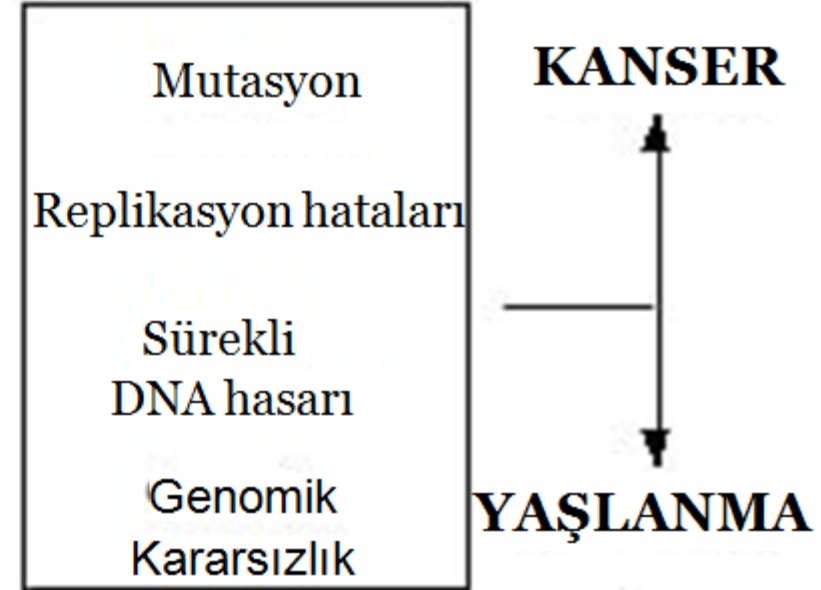
Oksidatif DNA hasarı, yaşlanma ve kanser

Genetik materyalin moleküler bütünlüğünde endojen veya ekzojen faktörlerin etkisiyle meydana gelen tüm değişiklikler **DNA hasarı** olarak adlandırılır.

DNA hasarı



DNA onarımı



İnsan vücudunun her hücresinde DNA'nın günde 10^3 kez oksidatif hasara maruz kaldığı one sürülmüştür.

DNA hasarı ve onarımı arasındaki denge nedeniyle, çok düşük düzeylerde hasar, sağlıklı bireylerde de saptanmaktadır.

Mitokondriyal DNA Hasarı ve yaşlanma

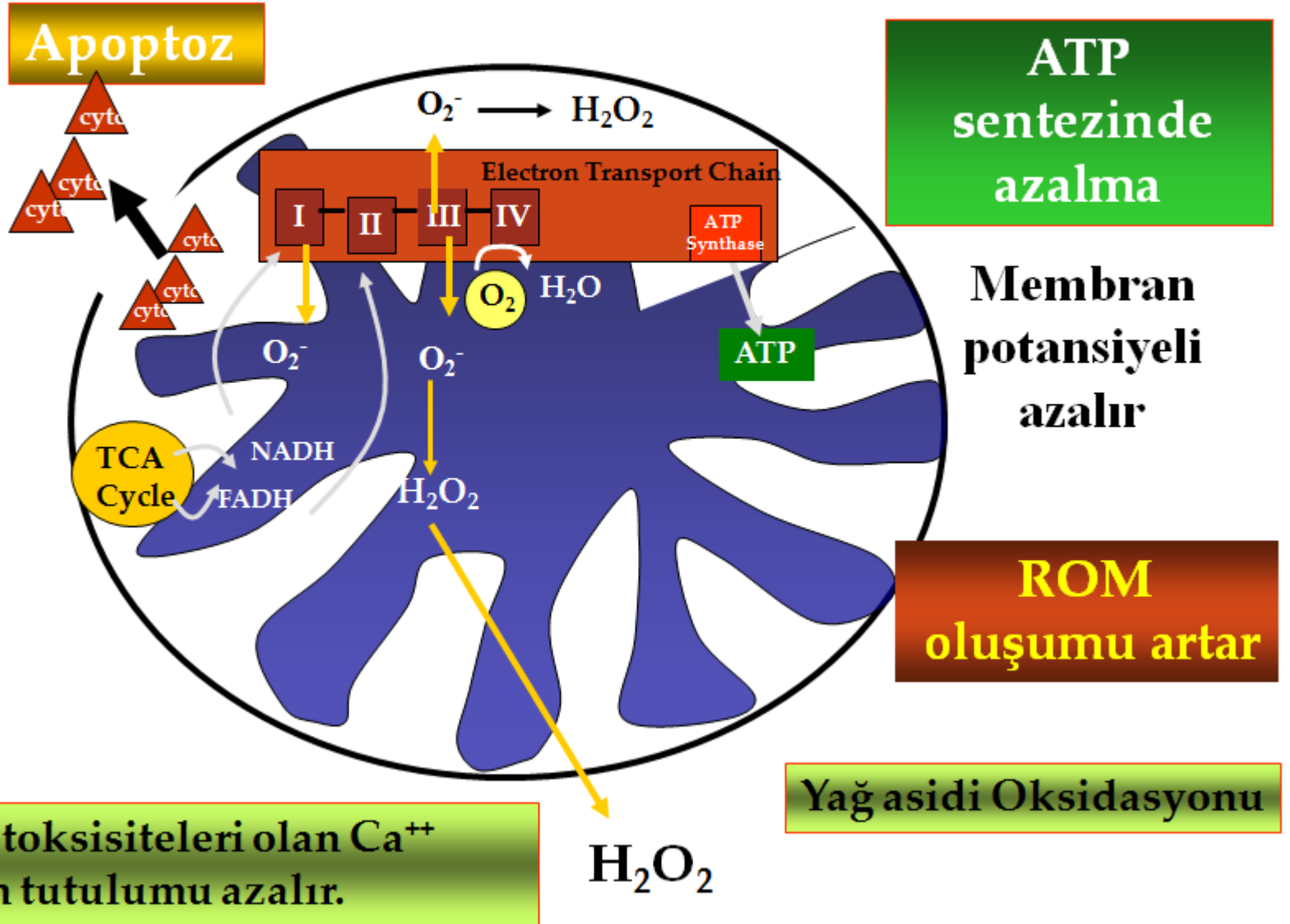
Yaşlanma ile ilişkili hastalıklar mitokondri DNA' sındaki **mutasyonların birikimi** ve buna bağlı **elektron transport zinciri** **komponentlerinde aktivite kaybı** ve **ATP üretiminde kayba** **bağlı aşırı ROM üretimi ile ilişkilidir.**

Mitokondriyal disfonksiyona bağlı olarak

- Membran potansiyeli azalır,
- ROM oluşumu artar (membran potansiyeli ROM oluşumunu düzenler)
- ATP sentezinde azalma olur,
- Potansiyel toksisiteleri olan Ca^{2+} iyonlarının tutulumu azalır.

Oksidatif hasara bağlı mutasyonel yük artarken koruyucu ve onarıcı proteinlerin azalması/hasarlanması mitokondrilerin hasar ve mutasyona yatkınlığını arttırır ve dolayısı ile hücrel yasanmayı hızlandırır.

Mitokondriyal redoks disfonksiyonu



Oksidatif stres
(eksojen ve endojen)



ROM üretimi



mDNA hasarı



Hasarlı DNA birikimi



Mitokondriyal redoks disfonksiyonu



Enerji üretiminde azalma

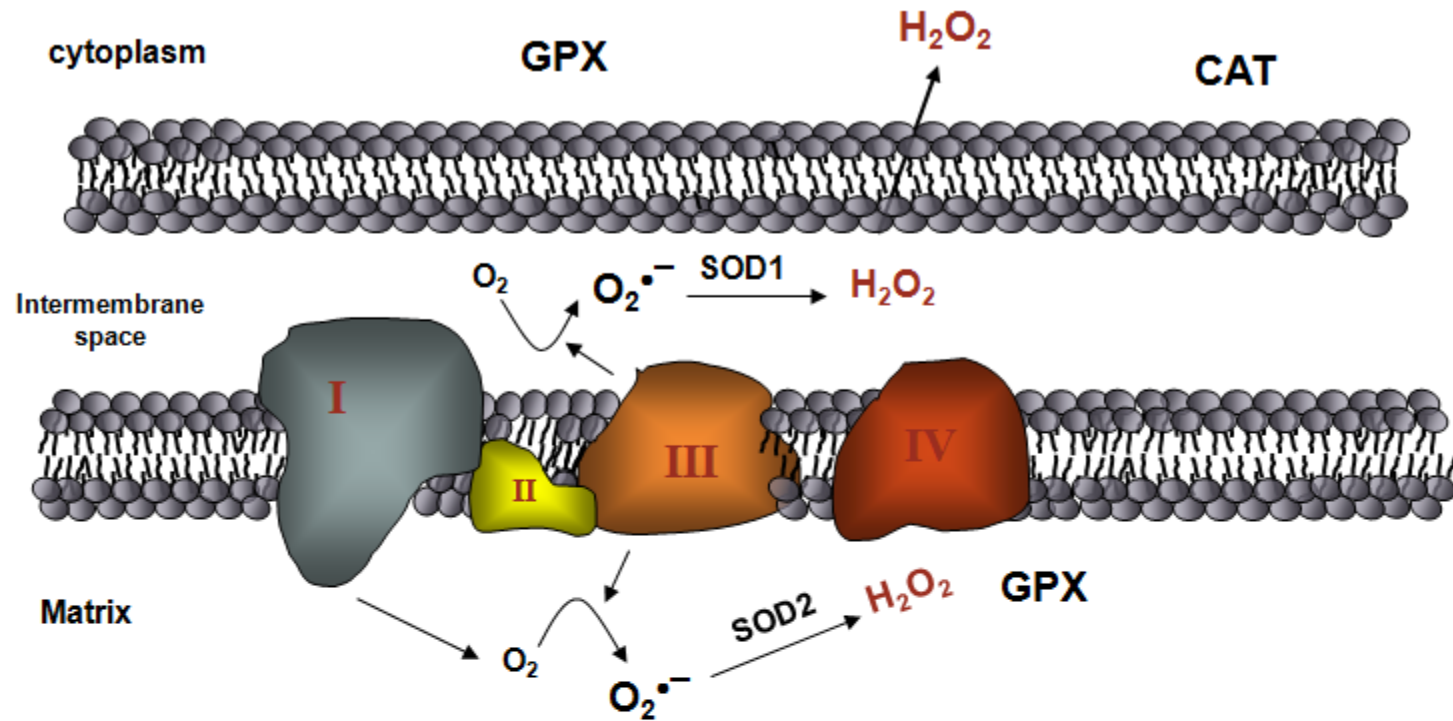


Organ disfonksiyonu

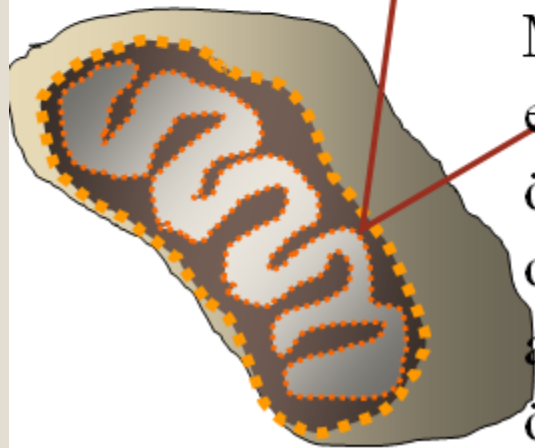
Apoptoz



Yaşlanma bulguları



Complex I ve Complex III arasında ROM oluşumu (NADH dehidrojenaz)



Mitokondrial elektron transport zincirinden elektron kaçağı sonucu oluşan serbest radikaller önce mitokondride ve sonra hücrede hasar oluşturmaktadır. Hasar ROM oluşumunu daha da arttırmaktadır. Bu kısır döngü belli bir yaştan sonra ölüm hızında görülen büyük artışı açıklamaktadır.

➤ Mitokondriyel DNA mutasyonları solunum zinciri komplekslerinden özellikle kompleks I (NADH dehidrogenaz) ve kompleks IV (sitokrom c oksidaz) aktivitelerinde azalmaya yol açmaktadır. Kısmen mtDNA tarafından kodlanan sitokrom c oksidaz'ın eksikliği en sık görülen elektron transport defektidir. Bu durumda nukleus süksinat dehidrogenaz aktivitesini arttırarak mitokondriyel eksikliği kompanse etmeye çalışır.

Sitokrom c oksidaz eksikliği ve süksinat dehidrogenaz hiperaktivitesi gösteren kas liflerinde mitokondriyel DNA'da delesyonlar saptanmıştır.

➤ Mitokondriyal oksidatif stres yaşlanma sırasında apoptozun intrinsik yolunun aktivasyonunda anahtar rol oynamaktadır. Apoptoz veya programlı hücre ölümü çok hücreli organizmalarda normal gelişme ve homeostaz için gereklidir. Alzheimer, Parkinson ve Huntington gibi nörodejeneratif hastalıklarda gereğinden fazla apoptoz olmaktadır.

Telomerler ve yaşlanma

Telomer, ökaryotik doğrusal kromozomların uçlarında bulunan, herhangi bir gen kodlamayan, özelleşmiş heterokromatin yapılarıdır.

Telomerlerin önemi,

1. kromozomların uçlarının rastgele çift zincir DNA kırılmalarından koruyarak istenmeyen kromozom uçlarının birleşmesinden ya da kromozomu nükleolitik parçalanmadan korur.
2. Kromozomların bu fiziksel korunmasının dışında, ökaryotik telomerleri, kromatin organizasyonu,
3. kromozomların replikasyonu ve
4. hücre çoğalmasını gibi önemli hücresel görevleri vardır

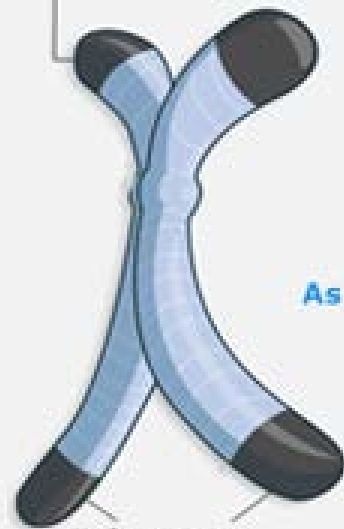
Telomerler,

Her hücre bölünmesinde boyları biraz daha kısalır (50-150 baz çifti)

Boyları « sınır » kabul edilen noktaya geldiği anda da hücre bölünmesinin durmasına neden olurlar.

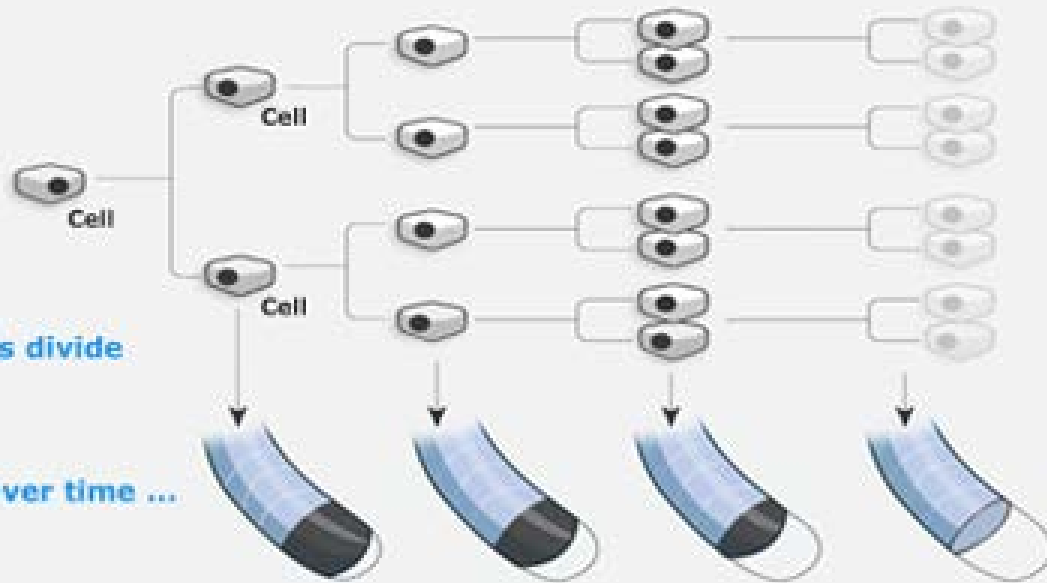
Bu kısalma zamana bağlı değildir, hücrenin bölünme sayısına ve kaybettiği baz çiftlerine bağlıdır. Hayflick Limiti ya da M1 (Mortality State 1) olarak adlandırılan bölgeye ulaşıldığında hücreler geri dönüşümsüz olarak yaşlanmaya girerler (Eun S, 2004). Bu durumda hücreler metabolik olarak aktiftirler fakat çoğalma özelliklerini kaybederler. İkinci bir kontrol noktası da M2 (MortalityState 2) kriz noktasıdır. Bu basamakta birçok hücre, kısalır ve fonksiyonlarını kaybeder.

Chromosome



Telomeres

end caps that protect
the chromosomes



As cells divide

over time ...

... telomeres shorten, and eventually cell division stops.

➤ Oksidatif DNA hasarı ve telomeraz aktivitesinde azalma telomer kısalmasına neden olarak hücre büyümesini durdurmaktadır. Hücreler bölünmemeye başladıkları zaman telomer kısalması yaşlanma sürecini hızlandırmaktadır.