T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVRSİTESİ
KARTAL KOŞUYOLU YÜKSEK İHTİSAS
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
KARDİYOLOJİ KLİNİĞİ

KORONER ARTER HASTALIĞI NEDENİYLE CABG YAPILAN HASTALARLA KORONER ARTER HASTALIĞI OLMAYAN KAPAK HASTALARI , HOCM HASTALARI,ASENDAN AORT ANEVRİZMASI OLAN HASTALARDA EPİKARDİYAL DOKUDA APOPTOZ, ANTİ APOPTOZ VE OTOFAJİ BELİRTEÇLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

KARDİYOLOJİ UZMANLIK TEZİ

DR. MESUT KARATAŞ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ.DR. GÖKHAN ALICI

TEZ DANIŞMAN YARDIMCISI
UZM. DR. CEM DOĞAN

İSTANBUL-2019

T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVRSİTESİ
KARTAL KOŞUYOLU YÜKSEK İHTİSAS
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
KARDİYOLOJİ KLİNİĞİ

KORONER ARTER HASTALIĞI NEDENİYLE CABG YAPILAN HASTALARLA KORONER ARTER HASTALIĞI OLMAYAN KAPAK HASTALARI , HOCM HASTALARI,ASENDAN AORT ANEVRİZMASI OLAN HASTALARDA EPİKARDİYAL DOKUDA APOPTOZ, ANTİ APOPTOZ VE OTOFAJİ BELİRTEÇLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

KARDİYOLOJİ UZMANLIK TEZİ

DR. MESUT KARATAŞ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ.DR. GÖKHAN ALICI

TEZ DANIŞMAN YARDIMCISI
UZM. DR. CEM DOĞAN

İSTANBUL-2019

SONSÖZ VE TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bana zamanlarını sabırla ayırıp faydalı olabilmek için ellerinden geleni yapan, edindikleri tecrübe ve bilgileri benden esirgemeyen , etik ve ahlaki açıdan mesleğimi en iyi şekilde icra etmemi sağlayan , gelecekteki meslek hayatımda sergilemekten gurur duyacağım davranış ve nosyonu bana kazandıran SBÜ Kartal Koşuyolu Yüksek İhtisas Eğitim Ve Araştırma Hastanesi'nde görev yapan hocalarıma teşekkür ediyorum.

Son olarak uzmanlık tezi olarak sunduğum bu çalışmamın , bilimsel ahlak ve geleneklere uygun şekilde tarafımdan yazıldığını , yararlandığım eserlerin tamamının kaynaklarımda gösterildiğini belirtir ve bunu onurumla doğrularım.

İÇİNDEKİLER

1) ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

2) ÖZET

3) GİRİŞ VE AMAÇ

4) GENEL BİLGİLER

- **HÜCRE HASARI VE ÖLÜM**
  - HÜCRE HASARININ NEDENLERİ
  - HÜCRE VE DOKU HASARININ MORFOLOJİSİ
  - GERİ DÖNÜŞÜMLÜ HÜCRE HASARI
  - HÜCRE HASARI MEKANİZMALARI
  - OTOFAJİ
  - HÜCRE YAŞLANMASI
- **İNFLAMASYON**
  - AKUT İNFLAMASYON
  - KRONİK İNFLAMASYON
  - İFLAMATUAR HÜCRELER VE MEDİATÖRLER
- **DOKU ONARIMI**
- **SKAR OLUŞUMU**

5) MATERYAL VE METOD

6) İSTATİSTİKSEL ANALİZ

7) TARTIŞMA

8) SONUÇ

9) KAYNAKLAR

ÖZET

Kardiyovasküler hastalıklar dünya çapında travmalardan sonra ölümlerin ikinci en sık sebebidir ve görülme sıklığı her geçen dekat biraz daha artmakta ve daha genç hastalarda da görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, 2016 yılında tüm dünyadaki ölümlerin % 31'ini oluşturan yaklaşık 17,9 milyon insan kardiyovasküler hastalıklar nedeniyle öldü. Basit bir kasılma kusurunu kalp bozukluğu olarak düşünmek yerine, kardiyovasküler hastalıklar başlangıçta 'kardiyak yeniden modelleme' olarak adlandırılan homeostatik kontrolü yönlendiren kalbin hücresel ve moleküler bileşenlerinde uyarlama değişikliklerinin sonuçları olarak değerlendirilmelidir. Kardiyak yeniden modelleme, kardiyak hücre ölümünün artmış oranlarını, hücre dışı matriste yapısal değişiklikleri ve beraberindeki iltihaplanmayı içerir. Kalp kusurlarında hücre ölümünün mekanizması sadece apoptozu ve nekrozu değil, aynı zamanda apoptozun programlanmış ve düzenlenmiş mekanizmasının yönlerini paylaşan ancak nekrotik morfoloji gösteren otofajiyi de içerir(2).

GİRİŞ-AMAÇ

Apoptoz, hücrenin çevreleyen dokuya zarar vermeden ölümünün ve gelişimin, doku döngüsünün ve bağışıklık sisteminin bir parçası olarak ortaya çıkan yüksek oranda programlanmış, enerjiye bağımlı bir mekanizmadır(3). Apoptoz ölüm yanlısı ve sağkalım sinyalleri arasındaki köprüdür ve sonuç hücre kaderinin anahtarıdır(4). Hücre büzülmesini, kromatin yoğunlaşmasını, DNA fragmantasyonunu, membran kabarcıklarını ve apoptotik cisimlerin oluşumunu içeren spesifik morfolojisi ile karakterizedir(3). İnsan kalp dokusunun incelenmesi ile elde edilen veriler, idiopatik dilated kardiyomiyopati, iskemik kardiyomiyopati ve hipertrofik kardiyomiyopati gibi durumlarla ilişkili olarak artmış apoptozisi düşündürmektedir(3). Bu tür durumlarla ilişkili olarak görülen apoptozun derecesi genellikle oldukça düşüktür fakat zaman içinde kalp hücrelerinin kademeli kaybının, nihai kalp yetmezliğine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir(3). Ayrıca, incelenen dokuların çoğunluğu hastalığın son aşamasında elde edilir ve apoptozun hafif hipertrofiden son dönem kalp yetmezliğine geçişinde rol oynayabileceği öne sürülmektedir(4).

Otofaji, uzun ömürlü proteinler ve organeller gibi yaşlı sitoplazmik bileşenlerin lizozom yardımı ile parçalanması ve geri dönüşümünün katabolik bir işlemdir(2). Normal koşullarda, homeostazın korunmasından sorumludur. Besin açısından yoksun bir hücrede, otofaji bir hücre-sağkalım mekanizmasıdır fakat aynı zamanda belirli koşullar altında hücre ölümüne aracılık eder(2). Besin yoksunluğuna adaptasyon, protein hücre içi klirensi gibi çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik rolleri ortaya çıkmıştır ve organeller, gelişim, anti-aging, mikroorganizmaların eliminasyonu, hücre ölümü, tümör baskılanması ve antijen sunumu(5). Kalpte otofajinin, iskemi reperfüzyonu ve kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıklar gibi streslere karşı yukarı regüle olduğu görülmektedir(2). Otofajinin kalpte hem yararlı hem de tehlikeli olup olmadığı belirsizdir çünkü hem hücre canlılığını hem de ölümü modüle ettiği görülmektedir. Ölmekte olan hücrelerde otofajik vakuolların varlığı, iki yoldan biri ile değerlendirilebilir: hücreler, hayatta kalmak için veya hücre ölümünün bir parçası olarak otofajiyi harekete geçirir.

Yetersiz otofajik aktivitesi olan bir hücrede, yaşlı proteinler ve kusurlu organellerin birikir ve sonunda apoptotik hücre ölümü meydana gelir (5). Tersine, eğer otofaji, proteinleri ve organelleri belirli bir eşiğin ötesinde bozarsa, özellikle yetersiz apoptotik yanıtı olan hücrelerde otofajik hücre ölümü meydana gelecektir (5).

Çapraz mekanizmanın iki mekanizma arasında gerçekleştiği ve otofaji ile apoptoz arasındaki dengenin homeostazı koruduğu sonucuna varılabilir.

Son kanıtlar, inflamatuvar yanıtın kalp yetmezliğinin gelişimine katıldığını ve NFK-B'nin patolojilerin bu yönünde çok önemli bir rol oynadığını ileri sürmüştür(6). Nükleer faktör kappa-B, reaktif oksijen ara maddeleri, hipoksi, hiperoksi, sitokinler, protein kinaz C aktivatörleri, mitojenle aktifleştirilmiş protein kinaz (MAPK) aktivatörleri gibi çeşitli faktörler tarafından aktive edilebilir(6). NFk-B'nin aktivasyonu, olası anti-inflamatuar etkilere sahip bazı maddeler de NFkB'nin düzenlenmesine rağmen lökosit adezyon molekülleri, sitokinler ve kemokinler gibi enflamasyonu destekleyen faktörlerin transkripsiyonuna yol açan gen programlarını indükler(6). Ayrıca, NFk-B ile düzenlenmiş pro-inflamatuar genlerin ekspresyonu, başarısızlık etiyolojisinden bağımsız görünmektedir, ancak hastalık derecesine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır(6).

Şimdi, MMP'ler tarafından hücre dışı matriks bozunmasının, ateroskleroz, restenoz, dilated kardiyomiyopati ve miyokardiyal enfarktüs dahil olmak üzere kardiyovasküler hastalık patogenezinde rol oynadığı açıkça ortaya çıkmaktadır(7). MMP'ler, aynı şeyi paylaşan çinko içeren bir endoproteinaz ailesidir ve yapısal alanlar olmakla birlikte, substrat spesifitesinde, hücresel kaynaklarda ve indüklenebilirlikte değişiklikler sergiler (7) Tüm MMP'ler gizli bir preformda salgılanır ve eylemlerini gerçekleştirmek için aktivasyon gerektirir (nötr pH'ta) ve stabilite için kalsiyuma ihtiyaç duyarlar. (7) Dört grup MMP vardır, kolajenazlar (MMP-1, -8 ve -13), jelatinazlar (MMP-2, -9), stromelisinler (MMP-3, -10 ve -11), membran tipi MMP'ler (MT-MMP'ler). MMP-1, -2, -3 ve -9 ekspresyonunun yeniden düzenlenmesi, yeniden modelleme sürecinde kalpteki bir dizi çalışma ile gösterilmiştir(7). MMP'ler aktive edildikten sonra, toplu olarak tüm ECM'yi indirgemeyi sağlar, faaliyetlerini sıkı kontrol altında tutmak çok önemlidir(7). MMP'lerin aktivitesi aşağıdaki üç seviyede kontrol edilir: transkripsiyon, latent proenzimlerin aktivasyonu ve endojen inhibitörleri TIMP'ler tarafından inhibisyon(7).

Kalp, dört farklı katmandan oluşan dev bir kas organıdır: dışarıdan içeriye perikardiyuma (iki bağ dokusu katman, viseral ve parietal) epikard (bağ dokusu katman), miyokard (kas katman) ve endokardiyum (endotel hücreleri). Epikardiyum, kalbin yüzeyini kaplayan visöz perikardın viseral tabakası olarak da bilinen en dış kardiyak epiteldir.

Epikardiyum, ilkel kalp ile aynı olan, coelomic splanchno-pleura'dan kaynaklanır, ancak farklılaşması, ilkel kalp tüpü zaten oluşturulduğunda ve ilmeklendiğinde gerçekleşir; Bu nedenle, epikardiyum genellikle ekstra kardiyak hücre popülasyonlarından biri olarak kabul edilir(8).

YOLAKLAR

Apoptoz:

Apoptoz mekanizmasındaki çekirdek, apoptotik uyarıcılara cevap olarak pro-kaspazların proteolitik bölünme ile kaspazlara dönüşümüdür. Kaspazlar, bir kaskadı başlatan ve hücredeki hayati substratları parçalayan bir aspartat spesifik sistein proteaz ailesidir(4). Kalpte, alfa aktin, alfa beta miyosin ağır zinciri, tropomiyosin ve kardiyak troponinler gibi bazı hayati kaspaz substratları bildirilmiştir(4). Alt tabakaların ayrılması, kaspaz-3, kaspaz-6 ve kaspaz-7'yi içeren 'uygulayıcı kaspazlar' ile gerçekleştirilir.

Apoptotik kaskat iki ana yol ile aktive olur: Sonunda uygulayıcı kaspazlarını aktive eden dış ve iç yol. Ek olarak, katlanmayan proteinler nedeniyle ER stresi varlığında kaspaz-12 tarafından başlatılan başka bir mekanizma vardır(4).

Dış yol, fas reseptörü veya tümör nekroz faktörü reseptörü (TNFR) gibi ölüm reseptörü süper ailesinin üyeleri tarafından uyarılan ölüm reseptörü yolunu içerir(4). Transmembran proteini fas ligandının reseptörüne bağlanması, kaspaz-8'i FADD (Fas-ilişkili ölüm domeni proteini) adaptör molekülü yoluyla aktive eden bir sinyalleşme kompleksi oluşumunu ve ardından apoptotik mekanizmanın temel bir efektörü kaspaz-3'ün aktivasyonunu indükler(4).

İç yol, mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneği (MPTP) boşluğu ya da dış mitokondriyal zarın bozulması yoluyla sitokrom c'nin salınımını ya da dış mitokondriyal zarın bozulmasıyla. İç yol, esasen hipoksi, iskemi-reperfüzyon, kardiyak ve oksidatif hücreler tarafından uyarılmaktadır ve mitokondriyal geçirgenlik geçişini tetikler(4). Serbest bırakıldığında, sitokrom c, sitozolik protein apafl'e bağlanır ve kaspaz-9'u aktive eden apoptozom kompleksi oluşumunu mümkün kılar ve ardından kaspaz-3 sonunda hücrenin sökülmesine neden olur.

Apoptoz, sayısız hayatta kalma yanlısı ve ölüm yanlısı sinyallerin karmaşık ağı tarafından kuvvetle düzenlenir. Özellikle, Bcl-2 protein ailesi hem anti-apoptotik (Bcl-2, Bcl-xl) hem de pro-apoptotik (Bax, Bid) proteinlerden oluşur ve etkilerini mitokondriyal zarın bütünlüğünü değiştirerek uygularlar apoptotik intermembran proteinlerinin salınımı(4). Ek olarak, yalnızca BH3 proteinleri, başka bir ölüm efektör tipidir ve pro-apoptotik Bax ve Bid proteinlerini aktive etmek veya anti-apoptotik Bcl-2, Bcl-xl proteinlerini etkisizleştirmek için ligandlar olarak işlev görürler.

Otofaji :

Üç ana otofajik yol vardır: makrofatofaji, mikroaufaji ve şaperon aracılı otofaji. Makrofatofaji en kapsamlı otofaji şeklidir. Büyüme faktörü sinyalizasyonu, fosfatidil-inositol3 kinaz (PI3K / Akt), mitojenle aktifleştirilen protein kinazlar (MAPK), AMP'ye bağımlı protein kinaz [AMPK] gibi birçok farklı uyarıcı ve çok sayıda yukarı akış sinyal yolu otofajiyi düzenleyebilir. Bu yolların birçoğu, eylemlerini, potansiyel bir otofaji önleyicisi olan rapamisin (mTOR) yolunun memeli hedefi ile gerçekleştirir(5). Ek olarak, otofaji, bir otofajiyi arttırıcı olan trehaloz gibi mTOR'dan bağımsız mekanizmalar tarafından başlatılabilir.

Otofaji aşağıdaki adımlardan oluşur: vezikül çekirdeklenmesi, vezikül uzaması, vezikül füzyonu ve bozulması. İlk faz için, proteinler ve organeller dahil sitozolik bileşenleri içine almak ve sekestre etmek için bir izolasyon membranı üretilir ve uzatılır(5). Sonunda, otofagosome adlı bir çift membran vezikülü oluşur. Otophagosome daha sonra otoizozom oluşturmak için lizozomla birleşir ve ardından bozunma meydana gelir.

Otofaji, esas olarak otofagozom oluşumunu düzenleyen otofajiye bağlı genler (Atgs) ile kontrol edilir(2). Belirgin bir şekilde, otofajinin vezikül çekirdeklenme aşaması için Beclin1 (Atg6) ve sınıf III PI3K gereklidir(2). Vezikül uzatma işlemi, ökaryotlar arasında iyi korunmuş iki konjugasyon sistemine sahiptir(2). Bir yol, Atg12 ila Atg5'in Atg7 ve Atg10 yardımı ile konjugasyonunu içerir(2). İkinci yol, fosfatidiletanolaminin Atg8'e (mikrotubule-bağlı protein 1 hafif zincir 3; LC3) konjügasyonunu içerir; Atg4, Atg7 ve Atg3. Konjugasyon, çözünür LC3 formunun (LC3-I), otofaji belirteci olarak kullanılan otofajik vezikülle ilişkili forma (LC3-II) dönüştürülmesine yol açar(2).

GENEL BİLGİLER

HÜCRE HASARI VE ÖLÜM

Hücre hasarı, hücreler uyum sağlayamayacakları derecede ağır bir stresle karşılaştıklarında veya intrinsik hasar oluşturucu etkenlere maruz kaldıklarında ya da kendi iç yapılarındaki (örneğin DNA veya proteinlerdeki) anormallikler nedeniyle gerçekleşir. Değişik zararlı uyaranlar, pek çok metabolik yolağı ve hücre organelini etkileyebilir. Hasar, geri dönüşlü bir dönemden geçerek ilerleyebilir ve hücre ölümü ile sonlanabilir.

Geri dönüşlü hücre hasarı : Hasara yol açan uyaran, hasarın erken dönemlerinde ya da hafif formlarında ortadan kaldırılırsa, meydana gelen fonksiyonel ve morfolojik değişiklikler geri dönüşlüdür. Bu dönemde, önemli yapısal ve fonksiyonel anormallikler bulunsa bile, ağır membran hasarı ve çekirdek dağılması gerçekleşmemiştirr.

Hücre ölümü: Hasarın sürmesi ile zedelenme geri dönüşsüz duruma gelir; artık iyileşmesi mümkün olmayan hücre ölür. Mekanizmaları, morfolojileri, hastalıklardaki ve fizyolojik durumlardaki rolleri farklı olan iki tip hücre ölümü vardır: nekroz ve apoptoz. Membran hasarı şiddetli olduğunda, enzimlerin lizozomlardan dışarı sızması, sitoplazmaya geçmesi ve hücreyi sindirmesiyle nekroz meydana gelir. Hücre içeriği, zedelenen plazma membranından hücre dışı aralığa yayılır ve konak yanıtını (inflamasyonu) başlatır. İskemi, toksinler, enfeksiyonlar ve travma gibi sık karşılaşılan pek çok zedelenmede başlıca hücre ölümü yolu nekrozdur. Büyüme faktörlerinden yoksun kaldığında, DNA'sı veya proteinleri onarılamayacak düzeyde zedelendiğinde; tipik olarak hücre kendini, apoptoz olarak adlandırılan ve membran devamlılığı tam olarak ortadan kalkmadan çekirdeğin dağılması ile karakterize olan bir yolla öldürür.

Nekrozun her zaman patolojik bir süreç olmasına karşın apoptoz, çok sayıda normal fonksiyona katkıda bulunur ve patolojik hücre hasarı ile birlikte olması gerekmez. Dahası apoptoz, belirli fizyolojik süreçlerdeki olaylardaki rolüne uygun olarak, inflamatuvar bir yanıta yol açmaz.

HÜCRE HASARININ NEDENLERİ

Hücre hasarı nedenleri; bir motorlu araç kazasının neden olduğu gözle görülür fiziksel travmadan, spesifik bir metabolik hastalıkta altta yatan fonksiyonel olmayan bir enzime yol açan tek bir gen kusuruna kadar uzanır. Hasara yol açan uyaranların çoğu, aşağıdaki kategorilere göre gruplandırılır.

Oksijen Eksikliği

Hipoksi veya oksijen eksikliği, aerobik oksidatif solunumu engeller. Hücre zedelenmesi ve ölümünün son derece önemli ve sık görülen bir nedenidir. Hipoksi, dokuya gelen arteriyel kan akışının kesintiye uğraması veya venöz dönüşün azalması anlamına gelen iskemiden ayırt edilmelidir. Hipoksinin en sık görülen nedeni iskemi ise de oksijen eksikliği, pnömonide olduğu gibi, kanın yetersiz oksijenlenmesinden veya kan kaybında ve karbon monoksit (CO) zehirlenmesinde olduğu gibi kanın oksijen taşıma kapasitesinin azalmasından da kaynaklanabilir. (CO, hemoglobin ile stabil bir kompleks oluşturur ve oksijenin hemoglobine bağlanmasını engeller).

Kimyasal Etkenler

Hücre hasarına yol açabildiği anlaşılan maddelerin sayıları gittikçe artmaktadır. Şeker ve tuz gibi zararsız maddeler bile, fazla miktarda emildiklerinde ya da verildiklerinde, ozmotik ortamı hücre hasarıyla ve ölümle sonuçlanabilecek şekilde değiştirebilir. Genelde zehir olarak adlandırılan maddeler membran geçirgenliğini, ozmotik homeostazı, bir enzim veya kofaktörün bütünlüğünü bozarlar. Bu gibi zehirlere maruz kalma tüm organizmanın ölümüne neden olabilir.

Hava kirliliğine yol açan maddeler, böcek ilaçları, CO, asbest, ayrıca etil alkol gibi "sosyal uyarıcılar", çevrede her gün karşımıza çıkabilecek, potansiyel toksik maddelerdendir. Tedavi amacıyla kullanılan birçok ilaç; duyarlı bir hastada veya aşırı ya da uygunsuz kullanıldığında hücre veya doku hasarı oluşturabilir . Oksijen bile, yeterince yüksek parsiyel basınç değerlerinde toksiktir.

Enfeksiyon Etkenleri

Enfeksiyon etkenleri, mikroskopta seçilemeyen virüslerden metrelerce uzunluktaki şerit solucanlara kadar, çeşitli boyutlarda olabilir. Bu iki uç arasından riketsiyalar, bakteriler, mantarlar ve protozoonlar bulunur.

Bağışıklık Reaksiyonları

Bağışıklık sistemi vücudu patojen mikroplara karşı savunur, ancak bağışıklık reaksiyonları hücre ve doku hasarıyla da sonuçlanabilir. Örnekler arasında, kişinin kendi dokularına karşı oluşan otoimmün reaksiyonlar ve genetik olarak duyarlı kişilerde çevresel etkenlere karşı görülen allerjik reaksiyonlar sayılabilir .

Genetik Faktörler

Genetik sapmalar, örnegin Down sendromuna eşlik eden konjenital malformasyonlardaki kadar gözle görülür olabilecekleri gibi, hemoglobin S'de orak hücreli anemiye yol açan, bir tek aminoasidin yer değiştirmesindeki kadar küçük de olabilir. Genetik defektler, doğumsal metabolizma kusurlarındaki gibi, fonksiyonel proteinlerdeki bir bozukluk ya da hasar görmüş DNA'nın veya hatalı katlanmış proteinlerin depolanması sonucunda hücre hasarına yol açabilir. Tüm bu durumlar, aksaklık onarılamaz olduğunda hücre ölümünü tetikler. Genetik çeşitliliklerin (polimorfizm), karmaşık bir çok hastalığın gelişmesinde katkısı vardır ve hücrelerin kimyasal maddelere ve çevredeki diğer zararlı etkenlere karşı duyarlılık derecesini etkileyebilir.

Beslenme Dengesizlikleri

Küresel refahın artmakta olduğu günümüzde bile, beslenmeyle ilgili eksiklikler hücre hasarının önemli bir nedeni olmayı sürdürmektedir. En önde gelen örnek, yardıma muhtaç topluluklardaki protein-kalori yetersizliği olsa da, yaşam standartının yüksek olduğu ülkelerde de belli vitamin eksiklikleri seyrek değildir. Diğer taraftan, beslenme eksikliklerinden çok beslenme bozuklukları da önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Obezitenin, tip 2 diabetes mellitus riskini artırması buna örnek olarak verilebilir. Hayvansal yağlar yönünden zengin olan besinlerin tüketilmesi, ateroskleroz oluşumundan ve kanserin de aralarında bulunduğu pek çok hastalığa karşı duyarlılığın artmasından sorumlu tutulmaktadır.

Fiziksel Etkenler

Travma, aşırı sıcak veya soğuk, radyasyon, elektrik şoku ve atmosfer basıncında birdenbire ortaya çıkan değişiklikler gibi fiziksel etkenlerin hepsi hücreler üzerinde çok çeşitli etkiler gösterebilir.

Yaşlanma

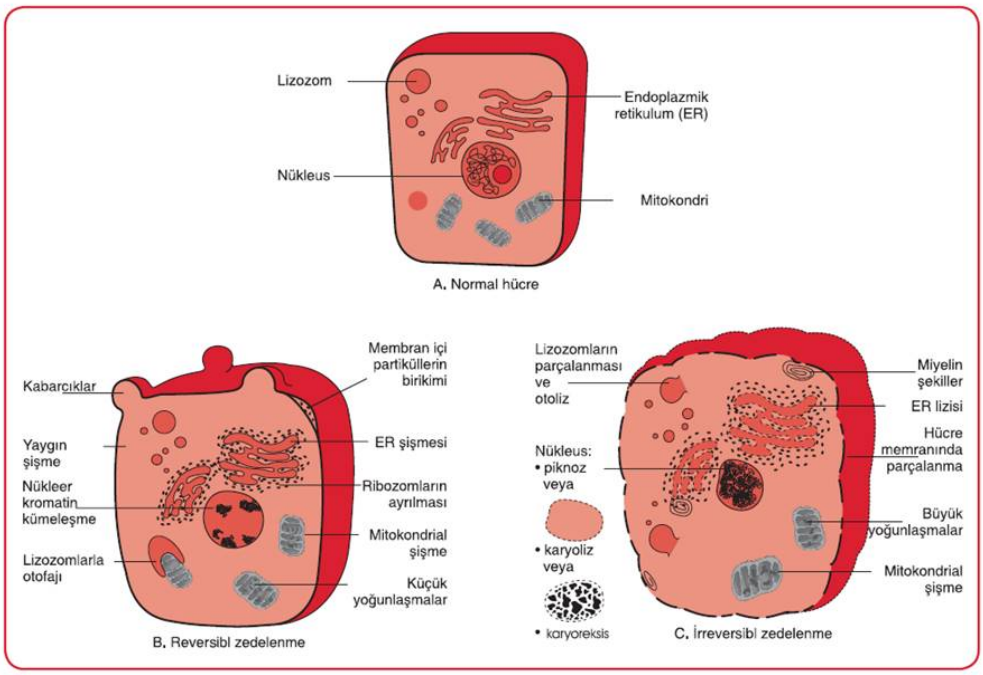
Hücrelerin yaşlanması, her bir hücre ve dokunun çoğalma ve kendini onarma yeteneğinde değişimlere yol açar. Tüm bu değişimler, hasara cevap yeteneğinde azalmaya ve sonuçta hücrelerin ve organizmanın ölümüne neden olur.

HÜCRE VE DOKU HASARININ MORFOLOJİSİ

Zarar görmüş hücrelerdeki yapısal değişiklikleri, bunlara yol açan biyokimyasal mekanizmalardan bahsetmeden önce tanımlamakta yarar vardır. Bütün stresler ve zararlı etkenler etkilerini önce moleküler veya biyokimyasal düzeyde gösterir. Hücre fonksiyonu, hücrenin ölümünden çok daha önce kaybolmuş olabilir ve hücre hasarının (veya ölümünün) morfolojik değişiklikleri ise bunlardan çok sonra ortaya çıkabilir. Örneğin, miyokard hücreleri kasılma yeteneklerini (kontraktilite) yalnızca 1-2 dakikalık iskemiden sonra kaybeder ama iskemi başlangıcından 20-30 dakika geçmeden ölmezler. Bu miyositlerin ölü olarak saptanabilmeleri elektron mikroskopuyla 2-3 saatten, ışık mikroskopuyla ise 6-12 saatten sonra mümkündür.Geri dönüşlü hasarın hücredeki olumsuz etkileri düzeltilebilir. Eğer zararlı uyaran ortadan kalkmışsa hücre normale dönebilir.

Devamlı ya da çok şiddetli hasar ise hücrenin, sınırları net olmayan "geri dönüşü olmayan nokta"yı geçerek geri dönüşsüz hasara uğramasına ve hücre ölümüne yol açar. Geri dönüşlü hasarın ne zaman geri dönüşsüz olacağını ve hücre ölümü yönünde ilerleyeceğini öngördüren olaylar henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Bunun klinik önemi çok açıktır: Hücre ölümünü doğru biçimde öngörebileceğimiz moleküler ve biyokimyasal değişiklikleri saptayabilirsek, geri dönüşlü hücre hasarının geri dönüşsüz hücre hasarına dönmesini önleyecek stratejiler geliştirebiliriz. Geri dönüşsüz hasarın kesin bir morfolojik veya biyokimyasal ilişkisi yoksa da, onu tutarlı biçimde karakterize eden iki fenomen vardır: Başlangıçtaki hasar düzelmiş olmasına rağmen mitokondri disfonksiyonunun düzelmemesi (oksidatif fosforilasyonun ve ATP üretiminin gerçekleşmemesi) ve membran fonksiyonlarındaki ağır bozukluklar. Daha önce belirtildiği gibi, lizozom membranlarının hasar görmesi, nekrozun karakteristiği olan ve hasarın nekroz yönünde ilerlediğini kesin olarak belirleyen enzimatik parçalanma ile sonuçlanır.

Daha önce de söylediğimiz gibi, değişik zararlı uyaranlar, nekroz ya da apoptoz yoluyla hücre ölümüne neden olabilir.Geri dönüşümlü hücre hasarının ve nekrozunun morfolojisi, aşağıda anlatılmaktadır.



Normal Hücrelerin (A), Reversibl (B) ve İrreversibl (C) Hücre Zedelenmesinde Görülen Değişikliklerin Ultrastrüktürel Özelliklerinin Şematik Sunumu (metne bakınız).

GERİ DÖNÜŞÜMLÜ HÜCRE HASARI

Geri dönüşlü hücre zedelenmesinin başlıca iki morfolojik özelliği, hücre şişmesi ve yağlı değişikliktir. Hücre; plazma membranındaki, enerji bağımlı iyon pompalarının yetersiz oluşu yüzünden iyon ve sıvı homeostazını devam ettirememesi nedeniyle şişer. Hipoksik hasarda ve çeşitli toksik veya metabolik hasarlarda gelişen yağlı değişiklik kendisini, sitoplazmada küçük veya büyük lipid vakuollerinin varlığıyla gösterir. Bazı durumlarda, potansiyel zararlı etkenler hücrenin endoplazmik retikulum gibi organellerinde özgün değişikliklere neden olur. Düz endoplazmik retikulum, çeşitli kimyasalların metabolizmasında rol oynar; bu kimyasallarla karşılaşan hücrelerdeki endoplazmik retikulumda, önemli fonksiyonel sonuçları olan bir adaptasyon (uyum) yanıtı olarak hipertrofi gelişir. Orneğin, barbitüratlar karaciğer hücrelerindeki düz endoplazmik retikulumda mevcut olan sitokrom P-450 mikst-fonksiyon oksidaz sistemi tarafından metabolize edilir. Barbitüratların uzun süre kullanılması; ilaç etkilerinin azalması ve doz artışına ihtiyaç duyulması ile karakterize olan ilaç toleransına yol açar. Bu adaptasyon, hepatositlerdeki düz endoplazmik retikulum hacminin artması (hipertrofisi) ve buna bağlı olarak P -450 enzima aktivitesinde artış meydana gelmesi sonucu gerçekleşir. P-450 aracılığıyla gerçekleşen metabolizma çoğu zaman "detoksifikasyon" olarak yorumlansada, bu metabolizma sonucunda bazı bileşikler daha zararlı hale gelir. Daha sonra anlatılacak olan karbon tetraklorür bu bileşiklerden biridir. Ayrıca sözkonusu oksidatif metabolizma sonucunda meydana gelen ürünler arasında hücreye zarar veren reaktif oksijen türevleri (ROT) de vardır. Bir ilaca uyum sağlayan hücrelerin, aynı sistemle metabolize edilen diğer bileşikleri metabolize etme kapasitesi artar. Örneğin, epilepsi tedavisi için fenobarbital kullanan hastalar aldıkları alkol miktarını artırırsa, antikonvülsif ilacın kan konsantrasyonu, düz endoplazmik retikulumun alkole yanıt olarak indüksiyonu nedeniyle, subterapötik düzeylere düşebilir.

MORFOLOJİ

Hücrelerdeki neredeyse her çeşit zedelenmenin ilk belirtisi olan hücre şişmesi ışık mikroskobuyla zorlukla değerlendirilirken, tüm organ düzeyinde daha belirgin olabilen, geri dönüşlü bir değişikliktir. Bir organdaki çok sayıda hücreyi etkilediğinde, organın renginin (kılcal (kapiller) damarların basıya uğraması nedeniyle) bir miktar solmasına, sert kıvamlı olmasına ve organ ağırlığının artmasına neden olur. Mikroskopik incelemede sitoplazmada küçük, berrak vakuoller görülebilir; bunlar, endoplazmik retikulumun gerilen ve kopan

segmentlerini temsil eder. Ölümcül olmayan bu tip hasar kimi zaman, hidropik değişiklik veya vakuoler dejenerasyon olarak adlandırılır. Yağlı değişiklik kendisini, sitoplazmada lipid vakuollerinin belirmesiyle gösterir. Yine geri dönüşümlü olan bu yanıt öncelikle, yağ metabolizmasında rolü olan hücrelerde (örn, hepatosit, miyokard hücresi) ortaya çıkar. Hasarlı hücrelerde ayrıca eozinofilik boyanma artışı da görülebilir ve nekroza doğru ilerleme olduğunda (daha sonra bahsedilecek) bu boyanma daha da belirginleşir.

Geri dönüşlü hücre hasarındaki hücre içi değişiklikler ; (1) mikrovillüslerin kabarcıklanması, küntleşmesi veya distorsiyonu ve hücre bağlantılarında gevşeme gibi plazma membran değişiklikleri; (2) şişme ve fosfolipid bakımından zengin, şekilsiz (amorf) dansitelerin ortaya çıkması gibi mitokondri değişiklikleri; (3) endoplazmik retikulumun, ribozomların ayrılması ve polizomların parçalanmasıyla birlikte genişlemesi ve (4) kromatin kümelenmesi şeklinde çekirdek değişiklikleridir. Sitoplazma, miyelin figürleri adı verilen ve hasarlı hücre membranlarından kaynaklanan fosfolipid kitleleri içerebilir.

NEKROZ

Nekroz hücre ölümünün; membran bütünlüğünün bozulması ve hücre içeriğinin dışarı sızması sonucu hücrelerin parçalanması ile ilişkili tipi olup; büyük ölçüde enzimlerin ölümcül derecede hasar görmüş hücre üzerindeki yıkıcı etkileri sonucu gerçekleşir. Dışarıya sızan hücre içeriği çoğu zaman, infiamasyon adı verilen, lokal konak reaksiyonuna yol açar. Bu reaksiyonun amacı, ölü hücreleri ortadan kaldırmak ve sonraki onarım sürecini başlatmaktır. Hücrenin sindirilmesinden sorumlu enzimler, ölmekte olan hücrenin bizzat kendisine ait lizozomlardan ve ölü hücrelere karşı gelişen inflamatuar reaksiyonun bir parçası olarak bölgede toplanan lökositlerin lizozomlarından kaynaklanabilir.Nekroz, zedelenmiş hücrelerin sitoplazmasındaki ve çekirdeğindeki değişikliklerle karakterizedir.

Sitoplazma Değişiklikleri: Nekroza uğrayan hücrelerde eozinofili artışı (hematoksilen-eozin [H&E] boyasında E harfiyle temsil edilen eozin boyasıyla pembe renge boyanma özelliğinin artması) görülür.

Bu artış kısmen, eozinin denatüre plazma proteinlerine bağlanmasıyla, kısmen de sitoplazmadaki normal olarak ribonükleik asit (RNA) tarafından sağlanan bazofilinin ("H&E"kısaltmasında H harfiyle temsil edilen, hematoksilen boyasıyla mavi renkte boyanma özelliği) azalması ile açıklanabilir. Nekroza uğrayan hücre canlı hücrelerle karşılaştırıldığında, özellikle glikojen partiküllerinin kaybolmuş olması sonucu daha camsı, homojen bir görünüme sahiptir. Miyelin figürleri nekroza uğrayan hücrelerde, geri dönüşlü hasara uğramış hücrelerde olduğundan daha belirgindir. Organelleri enzimler tarafından sindirilen sitoplazma vakuollü ve "güve yeniği" görünümündedir. Nekrotik hücreler elektron mikroskopisinde; plazma ve organel membranlarındaki kesintilerle, mitokondrilerde büyük, şekilsiz (amorf) dansitelerin ortaya çıkmasıyla ve belirgin genişlemeyle, lizozomların parçalanması ve intrasitoplazmik miyelin figürleriyle karakterizedir.

Hücre Çekirdeğindeki Değişiklikler: Tümü de DNA ve kromatin yıkımı nedeniyle gerçekleşen üç patternden biri şeklindedir: Muhtemelen deoksiribonükleaz (DNAz) aktivitesi sonucu kromatin bazofilisi soluklaşabilir (karyolizis); çekirdek, DNA'nın büzülmüş, solid bir kitle halini almasıyla büzülebilir ve artmış bir bazofili sergileyebilir (piknozis); ya da piknotik çekirdek, parçalanır (karyoreksis). Ölen hücrenin çekirdeği, 1-2 gün içerisinde tamamen ortadan kaybolabilir. Elektron mikroskopunda, çekirdeğin parçalanmasıyla sonuçlanan, ağır çekirdek değişiklikleri görülür.

Nekrotik Hücrelerin Akıbeti: Nekrotik hücreler, bir süre daha yerlerinde kalabilirler ya da enzimler tarafından sindirilerek tamamen kaybolabilirler. Ölü hücreler miyelin figürlerine dönüşürler. Bunlar ya diğer hücreler tarafından fagosite edilirler ya da yağ asitlerine parçalanırlar. Bu yağ asitlerinin kalsiyum tuzlarına bağlanması, ölü hücrelerin sonunda kalsifiye olması ile sonuçlanabilir.

DOKU NEKROZU TİPLERİ

Doku nekrozunun, altta yatan neden hakkında ipuçları verebilen, morfolojik bakımdan farklı tipleri vardır. Bu nekroz tiplerini tanımlamada kullanılan terimler arka plandaki mekanizmaları yansıtmasa da; genel kullanımdaki bu terimlerin ne anlama geldiği hem patologlar, hem de klinisyenler tarafından anlaşılır. Söz konusu nekroz tiplerinin çoğu, farklı makroskopik görünüme sahiptir; fibrinoid nekroz ise yalnızca histolojik inceleme ile ayırt edilebilir.

Koagülasyon Nekrozu: Zemindeki doku yapısının en az birkaç gün boyunca korunduğu nekroz tipidir. Bu tip nekrozda doku sertleşir. Nekroza yol açan zedelenme muhtemelen, yalnızca yapı proteinlerini değil, enzimleri de denatüre ederek ölü hücrelerin proteoliz sonucu ortadan kalkmasını durdurur; sonuçta çekirdeğini kaybetmiş, eozinofilik hücreler, varlıkları günlerce veya haftalarca devam ettirebilir. Lökositler nekroz bölgesinde toplanır ve ölü hücreler, lökositlerdeki lizozomal enzimlerin etkisiyle sindirilir. Geriye kalan hücre artığı (debris) ise, fagositozla uzaklaştırılır. Koagülasyon nekrozu, beyin dışında kalan tüm solid organlardaki infarktüs (iskemik nekroz) alanlarının karakteristiğidir.

Likefaksiyon Nekrozu: Fokal bakteri, bazen de mantar infeksiyonlarında görülen bu tip nekrozda mikroplar inflamatuar hücrelerin bölgeye toplanmasını uyardığından, lökosit enzimleri dokuyu sindirir ("sıvılaştırır, eritir"). Merkezi sinir sistemi hücrelerinin hipoksi nedeniyle ölmesi de, anlaşılamayan nedenlerden dolayı çoğu kez likefaksiyon nekrozuna yol açar. Patogenez ne olursa olsun, ölü hücreler tamamen sindirilir ve doku, visköz bir sıvı kitlesi halini alır. Sindirilmiş doku sonunda fagositler tarafından uzaklaştırılır. Eğer bu tip nekroz süreci, bakteri infeksiyonlarında olduğu gibi akut inflamasyonla başlamışsa oluşan sıvı materyal sıklıkla krem sarısı renk alır ve irin (pü) olarak adlandırılır.

Gangrenöz Nekroz: Hücre ölümünün farklı tipi olmamasına rağmen bu terimin güncel klinik uygulamada kullanılmasına devam edilmektedir. Terim genellikle, daha çok alt bacak olmak üzere arteriyel kanlanmasını kaybeden bir ekstremitede, çok sayıda doku katmanını ilgilendiren bir koagülasyon nekrozunu anlatır. Buna bakteri infeksiyonu da eklenirse, koagülasyon nekrozu, bakterilerin ve bölgede toplanan lökositlerin sıvılaştırıcı etkisi nedeniyle değişikliğe uğrar (yaş gangren denen tablo ile sonlanır.)

Kazeifikasyon Nekrozu: En çok tüberküloz infeksiyonu odaklarında karşımıza çıkar. "Peynirimsi" anlamına gelen kazeifikasyon terimi, nekroz alanının kırılgan, sarımsı beyaz rengini tanımlar. Mikroskobik incelemede, nekroz odağı hematoksilen-eozin boyasıyla pembe renge boyanan' , şekilsiz, granüler bir görünüme sahip, parçalanmış veya sıvılaşmış hücre topluluğu olarak gözükür. Koagülasyon nekrozundakinin aksine doku yapısı tamamen silinmiştir ve hücreler ayırdedilemez. Nekroz alanı çoğu zaman belirgin bir inflamatuar reaksiyon ile sınırlanmıştır; bu görünüm, granülom adı verilen bir inflamasyon odağı için karakteristiktir.

Yağ Nekrozu: Tipik olarak aktif pankreas lipazlarının pankreas dokusu ve periton boşluğuna yayılması sonucunda gelişen yağ yıkımı odaklarındaki nekrozdur. Son derece ağır bir tablo olan ve akut pankreatit olarak adlandırılan acil batın sorunu geliştiğinde görülür. Bu tabloda pankreas enzimleri, asiner hücrelerden ve duktuslardan dışarıya çıkar, peritondaki yağ hücrelerının membranlarını sindirir ve pankreas lipazları yağ hücrelerindeki trigliserid esterlerini parçalar. Serbest kalan yağ asitleri kalsiyumla birleşerek; cerrahın ve patoloğun lezyonları makroskopik olarak tanımasına olanak veren, tebeşirimsi beyaz bölgeler oluşturur. Histolojik incelemede nekroz odaklarında inflamatuar bir reaksiyonla kuşatılmış olan ve sınırları belirgin olmayan nekrotik yağ hücreleri ile bazofilik kalsiyum birikimleri görülür.

Fibrinoid Nekroz: Genellikle antijen-antikor komplekslerinin arter duvarlarında biriktiği, bağışıklık reaksiyonlarında gelişen ve ışık mikroskopuyla görülebilen, özel bir nekroz tipidir. Arter duvarında biriken antijen-antikor kompleksleri, damar dışına sızmış olan fibrinle birleşir ve HE preparatlarında patologların fibrinoid (fibrinimsi, fibrin-benzeri) adını verdiği, parlak pembe renkteki, şekilsiz görünümü oluşturur.

Hücre içi proteinlerinin hasar görmüş hücre membranından dışan ve daha sonra da dolaşıma sızması, nekrozun hangi dokuda geliştiğinin kan veya serum örnekleriyle ortaya konulmasına olanak tanır. Örneğin kalp kasında, kreatin kinaz enziminin benzersiz bir formu ve kontraktil bir protein olan troponin; karaciğerdeki safra kanalı epitelinde alkalen fosfataz enziminin ısıya dirençli bir izoformu, hepatositlerde ise transaminazlar bulunur. Bu dokulardaki geri dönüşsüz hücre hasarı ve ölümü, adı geçen bu proteinlerin serum düzeylerini yükselttiğinden bunların serum düzeylerinin ölçülmesi, söz konusu dokulardaki hasarın klinik olarak değerlendirilmesinde kullanılır.

HÜCRE HASARI MEKANİZMALARI

Hücre hasarının nedenlerini ve nekrozdaki morfolojik değişiklikleri anlattığımıza göre; önce hücre hasarının moleküler temelini daha ayrıntılı olarak görecek, bunu takiben de hasarın başlıca ilkelerini, sık karşılaşılan hasar tiplerinden derlediğimiz birkaç örnek eşliğinde inceleyeceğiz.

Herhangi bir hasar ile bunun hücre ve dokudaki sonuçları bağlantı kuran biyokimyasal mekanizmalar karmaşık, birbirleriyle ilişkili ve hücre içi metabolik yolaklar ile iç içe geçmiş durumdadır. Yine de neredeyse tüm hücre hasarı şekilleriyle ilgili birtakım genel ilkeler vardır:

Hücrelerin hasara neden olabilecek uyaranlar karşısındaki yanıtı, hasann tipine, devam süresine ve şiddetine bağlıdır. Böylece, düşük dozdaki toksinler veya kısa süren iskemi geri dönüşlü hücre hasarına yol açarken, yüksek dozdaki toksinler veya daha uzun süreli iskemi döneınleri geri dönüşsüz hasar ve hücre ölümüyle sonuçlanır.

Hasara neden olabilecek bir uyarının yol açabileceği sonuçlar; hasar gören hücrenin tipine, durumuna, adaptasyon yeteneğine ve genetik yapısına bağlıdır. Aynı hasar nedeni, hücre tipine bağlı olarak çok farklı sonuçlara yol açabilir. Böylece bacaktaki çizgili kaslar geri dönüşsüz hasar gerçekleşmeksizin tam iskemiye 2-3 saat boyunca dayanırken, kalp kası yalnızca 20-30 dakika devam eden bir iskemiden sonra ölmektedir. Hücrenin beslenme (veya hormonal) durumu da önemli olabilir; nitekim glikojenle dolu bir hepatosit iskemiyi, içindeki son glikoz molekülünü de tüketmiş olan bir hepatositten çok daha iyi tolere eder. Metabolik yolaklardaki genetik farklılıkların, hasara neden olabilecek uyaran karşısında verilen yanıtların da farklı olmasında etkisi olabilir. Örneğin aynı dozda toksine maruz kalan bireylerden, sitokrom P-450'yi kodlayan genlerinde kalıtsal varyantlar bulunan bireyler toksini farklı hızda katabolize eder ve farklı sonuçlarla karşılaşır. Günümüzde, genetik polimorfizmin ilaçlara ve toksinlere verilen yanıtlardaki rolünü anlayabilmek için çok çaba harcanmaktadır. Bu gibi etkileşimler, farmakogenomik olarak adlandırılır. Genetik çeşitlilikler aslında, karmaşık birçok hastalığa yatkınlık ve çeşitli terapötiklere verilen yanıt üzerinde etkilidir. Bireyin genetik yapısının tedavide yol gösterici olarak kullanılması, "bireyselleştirilmiş tıp uygulamasına" örnek gösterilebilir.

Hücre hasarı, hücredeki çok sayıdaki temel bileşenden bir veya daha fazlasında fonksiyonel ve biyokimyasal anormallikten kaynaklanır. Hücre zedelenmesinin ana hedefi ve biyokimyasal mekanizmaları: (1) Mitokondriler ve bunların, patolojik koşullarda ATP (adenozin trifosfat) ve ROT (reaktif oksijen türevleri) oluşturabilme yetenekleri; (2) kalsiyum homeostazındaki bozukluk; (3) hücre (plazma ve lizozom) membranlarının hasar görmesi ve (4) DNA hasarı ve proteinlerin hatalı katlanması

Hasara yol açabilecek herhangi bir uyaran, çok sayıda biyokimyasal değişikliği tetikleyebilir. Hücre hasarının belirgin olduğu belli bir uyaran varlığında ya da klinik durumda hangi mekanizmanın etkin olduğunu belirlemek, bu nedenle zordur.

Bu temel bilgileri edindikten sonra artık, hücre hasarına yol açan başlıca biyokimyasal mekanizmalardan söz edebiliriz.

ATP KAYBI

Hücrelerin enerji deposu olan ATP, mitokondrilerin elektron transport sisteminde oksijen indirgenmesi sırasında, adenozin difosfatın (ADP) oksidatif fosforilasyonuyla üretilir. Ayrıca oksijen yokluğunda glikolitik yolak, dolaşımdan ya da hücre içi glikojenin hidrolizinden sağlanan glikozu kullanarak da ATP üretebilir. ATP kaybının önde gelen nedenleri; sağlanan oksijenin ve besin maddelerinin yetersizliği, mitokondri hasarı ve bazı toksinlerin (örn, siyanür) etkisidir. Glikoliz kapasitesi daha yüksek olan dokular (örn, karaciğer), oksijen kaybını ve oksidatif fosforilasyon azalmasını, glikoliz kapasitesi sınırlı olan dokulara (örn, beyin) oranla daha iyi tolere eder. ATP şeklinde yüksek enerjili fosfat, membran transportu, protein sentezi, lipogenez ve fosfolipid döngüsü için gereken deasilasyon-reasilasyon reaksiyonları gibi hücre içi tüm sentez ve yıkım proçeslerinde gereklidir. Sağlıklı bir insandaki hücrelerin her gün toplam olarak 50-75 kg ATP yaktığı hesaplanmıştır.

Plazma membranındaki ATP bağımlı sodyum pompasının aktivitesindeki azalma, hücre içinde sodyum birikmesi ve potasyumun hücre dışına kaçması ile sonuçlanır. Sonuçta sodyumla birlikte hücre içine giren su hücrenin şişmesine ve endoplazmik retikulumun genişlemesine neden olur.

• Hücreye enerji sağlamak için, anaerob glikolizde kompansasyon amaçlı artış meydana gelir. Bunun sonucunda, hücredeki glikojen depoları hızla boşalır ve laktik asit birikimi, hücre içi pH değerinin ve hücredeki birçok enzim aktivitesinin azalmasına neden olur.

• ATP bağımlı Ca2+ pompalarının yetmezliği, hücre içi Ca2+ birikimine neden olarak hücrenin çok sayıdaki bileşeni üzerinde, daha sonra anlatılacak olan zararlı etkilere yol açar.

ATP kaybının uzun sürmesi veya şiddetlenmesi, protein sentez düzeneğinin yapısal bozukluğuna yol açar. Bu bozulma ribozomların, kaba endoplazmik retikulumdan ayrılmasına ve polizomların monozomlara ayrışmasına, sonuç olarak protein sentezinin azalmasına yol açar. En sonunda, mitokondrilerde ve lizozom membranlarında geri dönüşsüz hasar oluşur ve hücre nekrozu gerçekleşir.

MİTOKONDRİ HASARI VE DİSFONKSİYONU

Mitokondriler, hücrenin yaşamını sürdürmesini sağlayan enerjiyi ATP olarak üreten "mini-fabrikalar" olarak kabul edilebilir. Hücre hasarında ve ölümünde de çok önemli rol oynamaları, bu nedenle sürpriz değildir. Mitokondriler; aralarında hipoksinin, kimyasal toksinlerin ve radyasyonun da yer aldığı, hasarla sonuçlanan çok sayıda uyarana karşı duyarlıdır. Mitokondri hasarı, çeşitli biyokimyasal anormalliklerle sonuçlanabilir:

Daha önce de anlatıldığı gibi, oksidatif fosforilasyonun gerçekleşmemesi, progresif ATP kaybı üzerinden hücre nekrozuna yol açar.

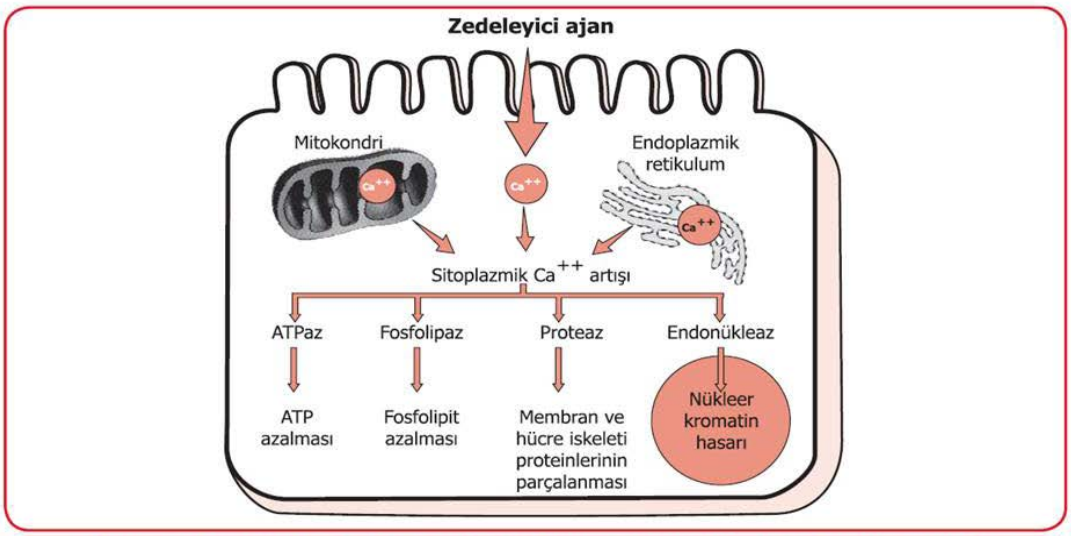
• Anormal oksidatif fosforilasyon ayrıca aşağıda anlatılan birçok zararlı etkileri olan, reaktif oksijen türevlerinin oluşmasına neden olur.

• Mitokondri hasar gördüğünde, membranında, 'mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneği (mitochondrial permeability transition pore)' adı verilen yüksek iletkenlikte kanal oluşumu gerçekleşir. Bu kanalın açılması, mitokondrilerdeki membran potansiyellerinin azalmasına ve pH değişikliklerine, yol açarak oksidatif fosforilasyonu bozar.

• Mitokondrilerin içerdiği bazı proteinler sitoplazmaya salındıklarında, hücreyi bir iç hasar meydana geldiği konusunda uyarırlar ve daha sonra bahsedilecek olan apoptoz yalağını aktive ederler.

KALSİYUM GİRİŞİ

Ca2+'un hücre hasarındaki önemi; deneysel olarak hücre dışı Ca2+ azlığının, hipoksi ve bazı toksinlere maruz kalınmasını izleyen hücre ölümünü geciktirdiğinin gösterilmesiyle belirlenmiştir. Sitozolik serbest kalsiyum konsantrasyonu, ATP bağımlı kalsiyum taşıyıcıları sayesinde, hücre dışındaki veya hücre içinde mitokondrilerde ve endoplazmik retikulumdaki kalsiyum konsantrasyonun 10 binde biri kadar düşük düzeyde tutulur. İskemi ve belirli toksinler sitozoldeki kalsiyum düzeyini, başlangıçta hücre içerisindeki depolardan Ca2+ salınımını sağlayarak, daha sonra da plazma membranından c2+ girişine neden olarak yükseltir. Sitozoldeki kalsiyum iyonlannın artması, hücre üzerinde tehlikeli etkilere sahip olabilecek çok sayıda enzimi aktive eder. Membran hasarına neden olan fosfolipazlar, gerek membrandaki, gerekse hücre iskeletindeki proteinleri parçalayan proteazlar, DNA'nın ve kromatinin parçalanmasından sorumlu endonükleazlar ve adenozin trifosfatazlar (ATPaz) bu enzimlerdendir. ATPazlar ATP kaybını hızlandırır. Hücre içerisindeki Ca2+ artışı ayrıca, kaspaz adlı enzimleri doğrudan aktive ederek ve mitokondri geçirgenliğini artırarak apoptoza da neden olabilmektedir.



Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları

OKSİDATİS STRES

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde, eşleşmemiş tek bir elektron yer alan kimyasal maddelerdir. Bu maddeler, aşırı kararsız olduklarından, inorganik ve organik kimyasallarla kolayca reaksiyona girer; hücre içerisinde oluştuklarında nükleik asitlere ve hücredeki çeşitli proteinlere ve lipidlere saldırır. Serbest radikaller ayrıca, reaksiyona girdikleri moleküllerin de diğer tip serbest radikallere dönüşmesine yol açarak hücredeki hasarın yayılmasına neden olur.

Reaktif oksijen türevleri hücre hasarındaki röllleri iyi tanımlanmış bir çeşit oksijen kaynaklı serbest radikallerdir.Pek çok durumda hücre hasarı serbest radikalleri tarafından gerçeklerşir. Bunlar arasında STEMI reperfüzyon hasarı, kimyasal hasar, radyasyon hasarı, oksijen ve diğer gazların toksik etkileri, hücre yaşlanması, mikropların fagositler tarafından öldürülmesi ve inflamatuar hücrelerin neden olduğu doku hasarı rol alır.

Başlıca iki farklı yoldan oluşturulurlar;

ROT normal olarak tüm hücrelerde mitokondri solunumu ve enerji üretimi sırasında gerçekleşen redüksiyon oksidasyon (redoks) reaksiyonlannda az miktarda üretilmektedir. Bu süreçte moleküler oksijen mitokondrilerde, su oluşturmak amacıyla ardı ardına dört elektronun ilave edilmesiyle indirgenir. Ancak bu reaksiyon kusursuz değildir ve oksijenin yalnızca kısmen indirgenmesiyle, ileri derecede reaktif, fakat kısa ömürlü, toksik ara ürünler oluşur. Kendiliğinden ve ayrıca da süperoksit dismutaz adlı enzimin etkisiyle hidrojen perokside (H202) dönüşen süperoksit (O2-), bu ara ürünlerden biridir. H202, O2-'den, daha dayanıklıdır ve biyolojik membranlardan geçebilir ve eğer ortamda Fe2+ gibi metaller varsa, Fenton reaksiyonuna girerek ileri derecede reaktif hidroksil radikaline ('OH) dönüştürülür.

Reaktif oksijen türevleri öncelikle fagositoz fonksiyonunu yerine getiren lökositlerde, nötrofillerde ve makrofajlarda; inflamasyon ve konak savunması sırasında hücre içerisine alınan mikropların ve diğer maddelerin yok edilmesi amacıyla silah olarak kullanılır.

Reaktif oksijen türevleri, lökositlerin fagozom ve fagolizozomlarında, mitokondri solunumundakine benzeyen ve respiratuar patlama (ya da oksidatif patlama) olarak adlandırılan bir mekanizmayla üretilir. Bu süreçte bir fagozomal membran enzimi, daha sonra hidrojen pernkside dönüşecek olan süperoksit oluşumunda katalizör rolünü üstlenir. Hidrojen peroksit (H202), lökositlerdeki miyeloperoksidaz enzimi tarafından ileri derecede reaktif bir bileşik olan hipoklorüre (çamaşır suyunun başlıca bileşeni) dönüştürülür

• Nitrik oksit (NO), lökositlerde ve diğer hücrelerde üretilen, diğer bir reaktif serbest radikaldir. Süperoksitle reaksiyona girebilir ve ileri derecede reaktif olan, hücre hasarında da etkisi bulunan peroksinitrit oluşturabilir.

Serbest radikallerin yol açtığı hasar üretilmeleriye ortamdan uzaklaştırılma hızlarına bağlıdır. Üretim artar ya da bunları temizleyen sistemler etkisiz kalırsa, serbest radikaller aşırı miktarda birikerek oksidatif stres adı verilen bir duruma yol açarlar.

Serbest radikallerin üretimi çeşitli koşullarda artar:

• Ultraviyole ışınlar ve x-ışınları gibi radyant enerjilerin absorpsiyonu. Iyonlaştırıcı radyasyon suyu, serbest hidroksil ("OH) ve hidrojen (ff) serbest radikallerine hidrolize edebilir.

• Eksojen kimyasalların (örneğin karbon tetraklorür) enzimlerle metabolize edilmesi.

• Serbest radikallerin lökositler tarafından üretildiği inflamasyon .

Hücreler, serbest radikalleri uzaklaştırmak ve böylece hasarı en aza düşürmek amacıyla çok sayıda mekanizma geliştirmiştir. Doğaları gereği kararsız moleküller olan serbest radikaller, kendiliklerinden parçalanır. Ayrıca, bunların inaktivasyonuna katkıda bulunan enzimatik olan ve olmayan sistemler de vardır.

• Süperoksidin parçalanması, birçok hücrede bulunan süperoksit dismutazların (SODlar) etkisiyle önemli ölçüde hızlanır.

• Glutatyon peroksidazlar (GSH), başlıca fonksiyonları hücreleri oksidatif hasardan korumak olan bir enzim ailesidir. Bu ailenin en bol miktarda bulunan bireyi olan, glutatyon peroksidaz; tüm hücrelerin sitoplazmalarında vardır. Hidrojen peroksitin 2 GSH (glutatyon) + H202 → GS-SG + 2H20 formülü üzerinden yıkılmasında katalizör rolü oynar. Hücre içindeki oksitlenmiş glutatyonun (GSSG) indirgenmiş glutatyona (GSH) oranı, bu enzimin aktivitesini, dolayısıyla hücrenin serbest radikalleri katalize edebilme yeteneğini yansıtır.

• Peroksizomlardaki bir enzim olan katalaz, hidrojen peroksidin parçalanmasında (2H202 → 02 + 2H20) rol oynayan bir katalizördür. Bilinen en aktif enzimlerden biri olan katalaz, saniyede milyonlarca molekül hidrojen peroksidin parçalanmasını sağlayabilir.

• Endojen veya eksojen antioksidanlar (örneğin E, A ve C vitaminleri, beta-karaten) serbest radikallerin oluşumunu durdurabilir ya da oluşmuş serbest radikal moleküllerini ortadan kaldırabilir.

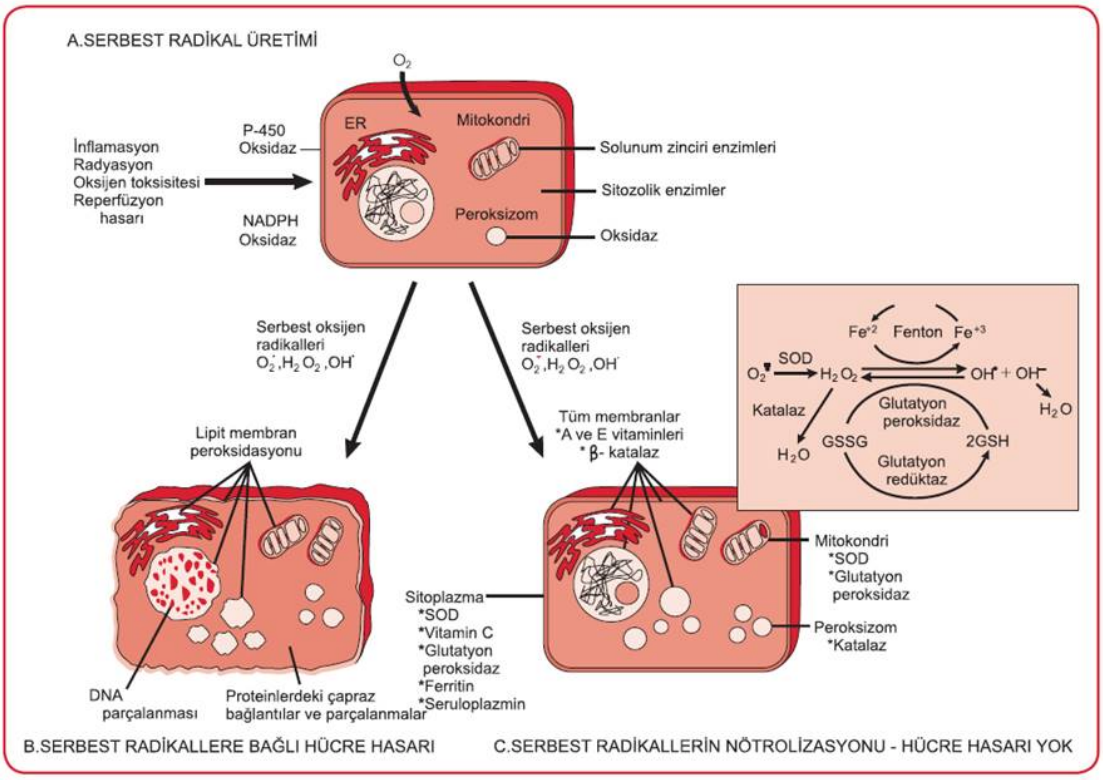
Reaktif oksijen türevleri başlıca üç reaksiyonla hücre hasarına neden olur.

• **Membranların Lipid Peroksidasyonu:** Membranda bulunan çoklu doymamış lipidlerdeki çift bağlar oksijen kaynaklı serbest radikallerin saldırısına duyarlıdır. Lipidlerin söz konusu radikallerle etkileşimi, kendileri de kararsız ve reaktif olan peroksitlerin ortaya çıkmasına yol açar ve otokatalitik (kendi kendini katalize eden) bir zincirleme reaksiyonu gerçekleşir.

• **Proteinlerdeki Çapraz Bağlanma ve Diğer Değişiklikler**: Serbest radikaller proteinlerin, sülfidril aracılığıyla gerçekleşen çapraz-bağlanmasını arttırırlar. Bu şekilde proteinlerin yıkımını artırır veya enzirnatik aktivitelerini kaybetmelerine neden olur. Serbest radikal reaksiyonları, direkt olarak polipeptidlerin parçalanmasına da yol açabilir.

• **DNA Hasarı:** Serbest radikallerin çekirdek ve mitokondri DNA'sındaki timin ile reaksiyona girmesi, tek iplikçik kırılmalarına (single-strand breaks) neden olur. Bu tür bir DNA hasarının hücre ölümüyle, yaşlanmasıyla ve malign transformasyonuyla ilişkili olduğu düşünülmektedir.

ROT, hücre hasarındaki ve mikropların öldürülmesindeki rollerine ek olarak, düşük konsantrasyonlarda, hücrelerdeki sayısız sinyalizasyon yalağında, dolayısıyla birçok fizyolojik reaksiyonda da rol oynar. Reaktif oksijen türevleri bu nedenle hücrede normal olarak üretilir, ancak sağlıklı hücrelerde hücre içi konsantrasyonları, zararlı etkilerinin görülmemesi için sıkı bir şekilde düzenlenir.



Serbest radikaller ve hücre hasarı

MEMBRAN GEÇİRGENLİKLERİ DEFEKTLERİ

Membran geçirgenliğinin artarak belirgin membran hasarına yol açması, neredeyse tüm nekrozla sonuçlanan hücre hasarı tiplerinin değişmez bir özelliğidir. Plazma membranı iskemiden, çeşitli mikropların toksinlerinden, kompleman bileşenlerinden ve çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenlerden zarar görebilir. Membran hasarına katkıda bulunabilen, çeşitli biyokimyasal mekanizmalar vardır.

• **Fosfolipid sentezinin azalması:** ATP düzeyi düşüp, hücredeki enerjiye bağımlı enzim aktivitelerinin azalması

na neden olduğunda, hücredeki fosfolipid üretimi azalabilir. Fosfolipid üretimindeki bu azalma, mitokondri membranları da dahil olmak üzere hücredeki tüm membranları etkileyerek ATP kaybını hızlandırır.

• **Fosfolipid yıkımının artması:** Ağır hücre hasarında, sitozoldeki Ca2+ seviyesindeki artış nedeniyle endojen fosfolipazlaraktive olur ve bunun sonucu olarak membran fosfolipidlerinin yıkımı artar.

• **ROT**: Serbest oksijen radikalleri, daha önce anlatılan lipid peroksidasyonu yoluyla, hücre membranlarının hasarlanmasına neden olur.

• **Hücre islceletindelci anormallikler**: Hücre iskeletindeki filamentler, plazma membranını hücre içerisine bağlayan çapalardır ve hücre yapısının, motilitesinin ve sinyalizasyonunun normal olarak devam ettirilmesinde birçok işleve sahiptir. Artan sitozolik Ca2+ nedeniyle aktive olan proteazlar, hücre iskeleti elemanlarına zarar vererek membran hasarına neden olabilir.

• **Lipid yıkım ürünleri**: Esterleşmemiş serbest yağ asitleri, asil karnitin ve lizofosfolipidler gibi lipid yıkım ürünlerinin tümü, hasar gören hücrede, fosfolipid yıkımı sonucu birikir. Bu katabolizma ürünleri, membranlar üzerinde deterjan aktivitesine sahiptir. Yine bu ürünler, membranın lipid çift tabakasına gömülerek veya membran fosfolipidleriyle yer değiştirerek, geçirgenlik değişikliklerine ve elektrofizyolojik değişikliklere neden olur.

Hücre hasarı sırasında en önemli membran hasarı bölgeleri mitokondri, plazma ve lizozom membranlarıdır.

• **Mitokondri membranlarındalci hasar**: Daha önce de bahsedildiği gibi, rnitokondriyal membran hasarı, ATP üretiminde azalmaya neden olur. Bunun nekroza kadar varan birçok olumsuz etkisi vardır.

• **Plazma membranındalci hasar:**Plazma membranının hasar görmesi osmotik dengenin bozulmasına, sıvıların ve iyonların hücreye girmesine, ayrıca hücre içeriğinin kaybına neden olur. Hücrelerdeki, ATP'nin tekrar oluşturulması bakımından yaşamsal öneme sahip metabolitler hücre dışına sızarak enerji depolarını daha fazla boşaltır.

• **Lizozom membranlarındaki hasar**: Enzimlerinin sitoplazmaya sızması ve hasar görmüş (örn, iskemik) hücrenin asidik intrasellüler pH ortamında asit hidrolazların aktivasyonu ile sonuçlanır. Lizozomlar; ribonükleazlar (RNaz), DNAzlar, proteazlar, glikozidazlar ve daha başka enzimler içerir. Bu enzimlerin aktivasyonu, hücre bileşenlerinin enzimatik sindirimine neden olur ve hücre nekroz ile ölür.

DNA VE PROTEİN HASARI

Hücrelerde, DNA hasarını onaran mekanizmalar vardır. Ancak bu hasar düzeltilemeyecek kadar ağırsa (örneğin radyasyon hasarı veya oksidatif stres sonrası) hücre intihar programını başlatarak apoptoz ile ölür. Benzer bir reaksiyon, kalıtsal mutasyonlar veya serbest radikaller gibi dış etkenler nedeniyle oluşan hatalı katlanmış proteinler ile de tetiklenebilir.

KLİNOKOPATOLJİK ÖRNEKLER

İskemik ve Hipoksik Hasar

İskemi ya da dokuya gelen arteriyel kan miktarının azalması, insanlarda görülen hastalıkların arka planında yer alan ve sık karşılaşılan bir akut hücre hasarı nedenidir. Enerji üretiminin (oksidatif yollardan elde edilenden daha az olsa da) anaerob glikoliz üzerinden devam edebildiği hipoksinin aksine iskemide, gelen kan miktarının azalmış olması nedeniyle, glikoliz için gerekli maddelerin sağlanmasınında da sorun vardır. Bunun sonucu olarak, dokuya ulaşabilen potansiyel substratlar tükendiğinde ya da glıkolız olayı normalde venöz kanla dokudan uzaklaştırılan metabolitlerin birikmesi nedeniyle inhibisyona uğradıgında, iskemik dokulardaki anaerob enerji üretimi de engellenir. İskemiye bağlı doku hasarı bu nedenle hipoksi nedenlı doku hasarından daha çabuk gelişir ve genellikle daha şiddetlidir. Oksijen yetersizliği çeken hücrelerde görülen başlıca anormallikler, ATP üretiminin azalması, mitokondri hasarı, ROT birikmesi ve bunların sonuçlarıdır. Hipoksik hücrelerdeki en önemli biyokimyasal anormallik, azalmış oksijen miktarı nedeniyle hücre içi ATP üretiminin azalmasıdır. Yukarıda da değindiğimiz gibi, ATP kaybı enerji bagımlı birçok hücre sisteminin yetmezliği ile sonuçlanır. Bunlar arasında iyon pompaları (hücrenin şişmesi, içeri Ca2+ girişi ve bunun olumsuz sonuçları); glıkojen depolarının boşalması ve laktik asit birikmesi sonucu hücre-içi pH değerinin düşmesi ve protein sentezının azalması sayılabilir.

Bu aşamada ağır fonksiyonel sonuçlar ortaya çıkabilir. Örneğin kalp kasının kasılması koroner tıkanıklığı izleyen 60 saniye içerisinde durur. Hipoksi devam ederse ATP açığının gittikçe şiddetlenmesi, mikrovillusların kaybıyla ve "kabarcıkların" oluşmasıyla birlikte durumun daha da kötüleleşmesine neden olur.Bu aşamada tüm hücre ve organelleri şişmiştir.Su sodyum ve klor artmış potasyum ise azalmıştır.Bu aşamada oksijen sağlanabilirse hücredeki hasar geri dönebilir ve mıyokart kontraktilitesine kavuşabilir.

İskemi devam ederse, geri dönüşşüz hasar ve nekroz gelişir. Geri dönüşsüz hasarda, mitokondrilerin aşırı şişmesi,plazma membranlarında yaygın hasar ve lizozomların şişmesi söz konusudur. Hücrelerde ROT birikir, kalsiyum yoğun biçimde hücre içine girebilir. Ölüm genellikle nekroz ile olur ama buna, apoptoz da eşlik edebilir. Apoptoz yolağı, mitokondrilerden proapoptotik moleküllerin salıverilmesiyle aktive olur. Hücrenin bileşenleri progresif bir şekilde yıkıma uğrar ve hücre enzimleri yaygın bir şekılde hücre dışı boşluğa sızar. Son olarak ölü hücrelerin yerini, fosfolipidlerden oluşan büyük kitleler olan miyelin figürleri alır. Bunlar da lökositler tarafından fagosite edilir ya da daha sonra kalsifiye olabilecek yağ asitleri yönünde daha fazla yıkıma uğrar.

İskemi-Reperfüzyon Hasarı

Eğer hücrelerde geri dönüşlü hasar gerçekleşmisse, kan akışının yeniden sağlanması sayesinde hücreler iyileşebilirler. Ancak belli koşullarda iskemik, ancak henüz canlı olan dokulara yeniden kan sağlanması, çelişkili şekilde, geri dönüşsüz şekilde hasarlanmamış olan hücrelerin ölümüyle sonuçlanır. Iskemi reperfüzyon hasarı olarak adlandırılan bu durum, miyokard ve beyin iskemisinde gelişen doku hasarında önemli payı olan, klinik açıdan önemli bir proçestir.

İskemik dokunun reperfüzyonu sonucu meydana gelen hücre hasarında çeşitli mekanizmaların rolü vardır:

• Reoksijenasyon sırasında, parankimal hücreler, endotel hücreleri ve bölgeye toplanan lökositlerden fazla miktarda ROT üretilmesi, yeni hasarı başlatabilir. Sağlanan oksijen miktarı arttığında, ROT üretimi de buna bağlı olarak artar. Bunun nedeni, mitokondriyal hasarın oksijenin tam olarak indirgenememesine yol açması ve lökositlerdeki, endotel hücrelerindeki ve parenkimal hücrelerdeki oksidazların etkisidir. Hücredeki antioksidan savunma mekanizmalarının da iskemiden zarar görmüş olması, serbest radikallerin birikimini kolaylaştırır.

• lskemik hasarın başlattığı inflamasyon, reperfüzyon sırasında, dokuya fazla miktarda lökosit ve plazma proteini gelmesi nedeniyle artabilir. Aktive lökositlerin ürünleri, ek doku hasarına yol açabilir. Kompleman sisteminin aktivasyonu da iskemi-reperfüzyon hasarına katkıda bulunabilir. Kompleman proteinleri, hasarlı dokuya ya da dokularda depolanmış olan antikorlara bağlanabilir ve bunu izleyen kompleman aktivasasyonu, hücre hasarını ve inflamasyonu şiddetlendiren yan ürünler üretir.

Kimyasal Toksik Hasar

Bazı kimyasallar etkilerini doğrudan doğruya önemli bir hücre bileşeni ile birleşerek gösterir. Örneğin, cıva klorür zehirlenmesinde (kontamine deniz ürünlerinin tüketilmesine bağlı olarak görülebilir) cıva, hücre membranı proteinlerindeki çeşitli sülfhidril gruplarına bağlanarak ATP gerektiren transportu inhibe edebilir ve membran geçirgenliğini artırabılır. Antıneoplastik olarak kullanılan kemoterapötiklerin birçoğu da direkt sitotoksik etki ile hücre hasarına yol açar. Bu gibi durumlarda hücre hasarı en fazla bu bileşikleri kullanan, absorbe eden, dışarı salgılayan ve ya konsantre eden hücrelerde görülür.

Diger birçok kimyasal, intrensek biyolojik aktiviteye sahip değildir ve bunların toksik etki gösterebilmeleri için, önce hedef hücreleri etkileyen reaktif toksik metabolıtlere dönüşmesi gerekir. Bu dönüşüm genellikle, karaciğer ve dıger organların hücrelerindeki düz ER'da bulunan, sitokrom P-450 tarafından gerçekleştirilir. Metabolitler membran ve hücre hasarına, proteinlere ve lipidlere doğrudan kovalent bağlarla bağlanarak da yol açabilirlerse de hücre hasarına neden olan en önemli mekanizma, serbest radikaller üzerinden etkili olur. Bir zamanlar kuru temizleme sanayisinde yaygın olarak kullanılan, ancak günümüzde yasaklanan bir madde olan karbon tetraklorür (CC14) ve analjezik olarak kullanılan asetominofen bu kategoriye girer. CC14'ün toksik etkisi eğitim amacıyla, kimyasal hasara örnek olarak günümüzde de kullanılmaktadır. CC14, daha çok karaciğerde olmak üzere toksik bir serbest radikal olan karbon triklorüre (CCI3) dönüşür ve bu madde, öncelikle membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu üzerinden hücre hasarına neden olur. CC14'e maruz kalınmasını izleyen 30 dakika içerisinde, ER membranları parçalanır, karaciğerde enzim proteinlerinin ve plazma proteinlerinin sentezi azalır;

2 saat içinde de, düz ER şişmesi ve ribozomların buradan ayrılması gerçekleşir. Hepatositlerin, trigliseridler ile kompleks oluşturup lipoprotein salgılanmasını kolaylaştıracak olan apoproteinleri sentezleyememesi nedeniyle, bu hücrelerden çıkan lipid miktarı azalır. CC14 zehirlenmesinin sonucu bu nedenle "yağlı karaciğer"dir. Bunu mitokondri hasarı izler ve ATP depolarının azalması kusurlu iyon transportuna ve hücrenin giderek şişmesine yol açar. ER'de lipid peroksidasyonuyla üretilen yağ aldehidleri, plazma membranına daha fazla hasar verir. Sonuç, hücreye kalsiyum girmesi ve sonunda hücre ölümü olabilir.

APOPTOZ

Apoptoz, hücrenin kendi nükleer DNA'sının, nükleer ve sitoplazmik proteinlerinin yıkımına neden olacak enzimleri aktive etmesiyle gerçekleşen bir hücre ölümü çeşididir. Apoptotik hücre parçaları koparak, bu olaya verilen isimden (apoptoz, dağılma) sorumlu olan görüntüyü oluştururlar. Apoptotik hücrelerin plazma membranı sağlam kalır ama hücrenin ve parçalarının, fagositler için çekici bir hedef haline gelmesine yol açacak değişikliklere uğrar. Ölen hücre ve parçaları, hücre içeriğinin dışarıya sızmasına zaman kalmadan, hızla ortadan kaldırıldığından apoptotik hücre ölümü konakta inflamatuar yanıta neden olmaz. Apoptoz bu bakımlardan, membran bütünlüğünün bozulduğu, hücrelerin sindirildiği, hücre içeriğinin dışarı sızdığı ve çoğu zaman bir konak reaksiyonunun oluştuğu nekrozdan farklıdır. Ancak apoptoz ve nekroz bazen birlikte de bulunabilir ve bazı patolojik uyaranlar nedeniyle başlayan apoptoz, nekroz yönünde ilerleyebilir.

APOPTOZ NEDENLERİ

Apoptoz birçok normal durumda gelişir ve potansiyel olarak zararlı olabilecek hücrelerle, artık işe yaramayacak hücrelerin ortadan kalkmasını sağlar. Hücreler onarılamayacak derecede hasar gördüğünde, özellikle de bu hasar hücre DNA'sını veya proteinlerini etkilediğinde, apoptoz patolojik bir olay olarak gerçekleşir. Bu durumda, onarılamayacak düzeyde hasarlı hücre, apoptozla ortadan kaldırılır.

Fizyolojik Durumlarda Apoptoz

Apoptoz yoluyla hücre ölümü, artık gereksinim duyulmayan hücrelerin uzaklaştırılması ve dokudaki çeşitli hücrelerin sabit sayıda kalmasını sağlamaya hizmet eden, normal bir olaydır. Aşağıdaki fizyolojik durumlarda önemlidir.

• Embriyogenez sırasında hücrelerin programlı bir şekilde yok edilmesi; normal gelişme bazı hücrelerin ölmesi ve yeni hücrelerin ve dokuların ortaya çıkması ile olur. Programlanmış hücre ölümü deyimi ilk başlarda; organizmanın gelişmesi sırasında özel hücre tiplerinin belirlenmiş zamanlarda ölmesini belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Apoptoz, koşullar ne olursa olsun, bu çeşit hücre ölümünü anlatan genel bir terimdir, ama apoptoz terimi çoğu zaman, "programlanmış hücre ölümü" terimiyle birbirlerinin yerine kullanılmaktadır.

• Hormona bağımlı dokuların hormon eksikliği durumunda involüsyonu**;** endometriyum hücrelerinin adet siklüsü sırasında yıkılması; memelerin, bebek sütten kesildikten sonra küçülmesi**.**

• Çoğalan hücre popülasyonlarında; örneğin bağırsak kriptlerindeki epitelde, sabit bir hücre sayısının korunmasını sağlamak için hücre kaybı.

• Yararlı hizmetleri sona eren hücrelerin; örneğin akut inflamatuar yanıtta nötrofillerin, bağışıklık yanıtı sona erdiğinde lenfositlerin uzaklaştırılması. Bu durumlarda**,** hücreler hayatta kalmaları için gerekli olan, büyüme faktörleri gibi sinyallerden yoksun kaldıkları için apoptoza giderler.

• Kendilerine karşı reaktif hale gelen, zararlı olabilecek lenfositlerin, vücudun kendi dokularına karşı reaksiyon vermesini önlemek amacıyla olgunlaşmaları tamamlanmadan önce veya tamamlandıktan sonra uzaklaştırılması.

• Sitotoksik T hücreleri tarafından başlatılan hücre ölümü; virüsle enfekte hücrelerin ve neoplastik hücrelerin öldürülmesini sağlayan, virüsler ve tümörlere karşı bir savunma mekanizmasıdır.

Patolojik Durumlarda Apoptoz

Apoptoz, genetik olarak değişikliğe uğramış veya onarılamayacak derecede hasar görmüş hücreleri ortadan kaldırır ve bu fonksiyonu, şiddetli bir konak reaksiyonuna yol açmaksızın yerine getirir. Böylece, doku hasarını en düşüle düzeyde tutar. Çeşitli patolojik durumlardaki hücre kaybından apoptoz sorumludur:

• DNA hasarı : Radyasyon, kanser tedavisinde kullanılan sitotoksik ilaçlar, aşırı sıcak veya soğuk, hatta hipoksi, DNA'ya doğrudan doğruya veya serbest radikal üretimi üzerinden hasar verebilir. Onarım mekanizmaları hasarla başa çıkamazsa hücre, apoptozu başlatan intrensek mekanizmalarını harekete geçirir. Bu gibi durumlarda hücrenin yok edilmesi, hasarlı DNA'da malign transformasyona ilerleyebilecek mutasyonların oluşumu riskinden daha iyi bir seçenek olabilir. Hücreye zarar veren bu etkiler hafifse apoptoza neden olabilir, ancak aynı etkenlerin çok daha yüksek dozları, hücrenin nekroz sonucu ölmesiyle sonuçlanabilir. Kanser hücrelerinde apoptoz başlatmak, çoğu DNA'ya hasar veren kemoterapötiklerin arzu edilen bir etkisidir.

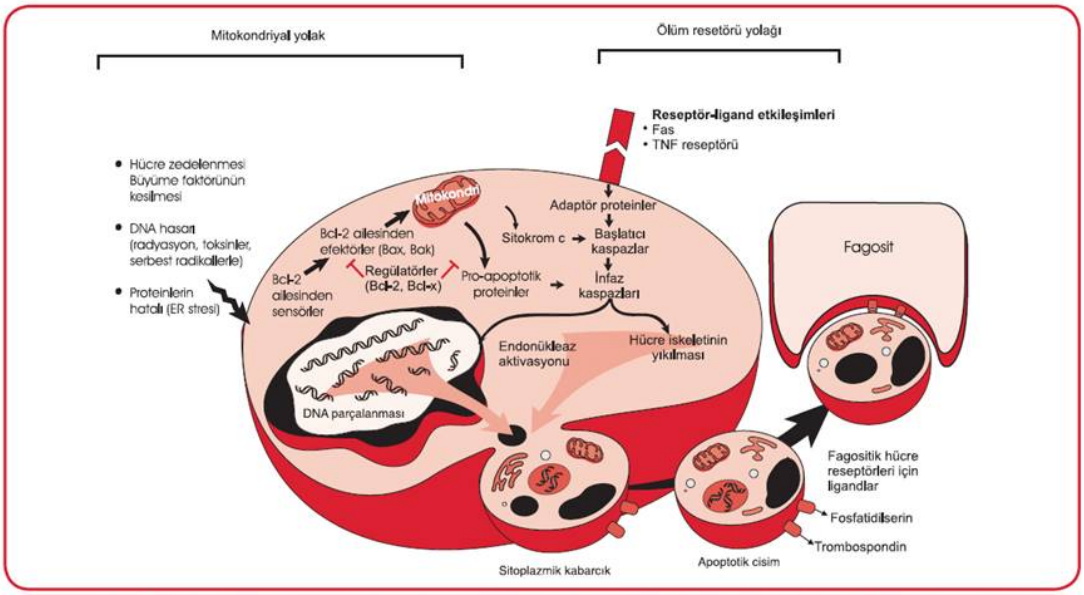
• Hatalı katlanmış proteinlerin birikimi: Hatalı katlanan proteinler, kendilerini kodlayan genlerdeki mutasyonlar veya serbest radikallerin yol açtığı hasar gibi ekstrensek faktörler nedeniyle meydana gelebilir. Bu proteinlerin ER'da aşırı miktarda birikmesi, sonunda apoptotik hücre ölümüyle sonuçlanan ve endoplazmik retikulum stresi olarak adlandırılan gelişmelere yol açar.

• Belirli enfeksiyonlardaki hücre hasarı: Başta viral enfeksiyonlar olmak üzere, belirli enfeksiyonlarda oluşan apoptotik hücre ölümü virus (adenovirüs veya HIV gibi enfeksiyonlar) ya da konak immun yanıtı (viral hepatitteki gibi) tarafından başlatılır.

• Parankim hücrelerinde duktus obstrüksiyonunu izleyen patolojik atrofi: Pankreas, paratiroid ve böbrek gibi organlarda görülebilir.

MORFOLOJİ

HE ile boyanan doku kesitlerinde, apoptotik hücrelerin çekirdeklerinde, kromatin kondansasyon ve kümelenmesinin çeşitli evreleri ve en sonunda karyoreksis görülür. Bu gelişmeler moleküler düzeyde, DNA'nın nükleozom boyutlarındaki parçalara ayrılması ile kendini gösterir. Söz konusu hücreler hızla büzülerek sitoplazmik tomurcuklar oluşturur. Sitozol ve organeller içeren membranla çevrili veziküllerden oluşan apoptotik cisimciklere parçalanır. Bu parçalar dışarı atılarak inflamatuar yanıta yol açmaksızın hızla fagosite edildiklerinden, önemli boyutlardaki apoptoz bile histolojik olarak saptanmayabilir.



Apoptoziste İleri Sürülen Olaylar Dizisi. Çeşitli iç ve dış tetikleyiciler direkt olarak hücre içi proteaz aktivitesinin ve/veya hücre içi kalsiyumun artmasına yol açar. Bu tetikleyiciler radyasyon veya serbest radikaller, reseptör bağlanması (ör., FAS), büyüme faktörlerinin azalması veya programlı hücre ölümü (ör., embriyogenezis sırasında) gibi zedeleyici uyaranları kapsar. Artan hücre içi kalsiyum aynı zamanda hücre içi proteaz aktivitesini de arttırır. Artan proteaz aktivitesi, endonükleaz aracılı nükleer kromatin parçalanmasını ve hücre iskeleti parçalanmasını kapsayan hücre içi yıkıma neden olur. Sonunda çeşitli hücre içi organelleri ve diğer sitoplazmik yapıları içeren apoptotik cisimleri meydana gelir. Bu cisimler aynı zamanda fagositik hücrenin bağlanması ve hücre içine alınması için yeni bağlar ortaya çıkarır.

APOPTOZ MEKANİZMALARI

Apoptoz, kaspaz adı verilen enzimlerin (bu enzimlere proteinleri aspartik residülerin ardından parçalayan sistein proteazlar olmaları nedeniyle bu ad verilmiştir) aktivasyonuyla gerçekleşir. Kaspaz aktivasyonu, pro- ve anti-apoptotik proteinlerin üretim ve yıkımları arasındaki hassas bir dengeye bağlıdır. Kaspaz aktivasyonu ile sonuçlanan iki farklı yolak mevcuttur; mitokondrial yolak ve ölüm reseptörü yolağı. Birbirleriyle kesişebilmelerine rağmen bu iki yol genellikle farklı koşullar altında harekete geçen, farklı moleküllerin işe karıştığı ve fizyolojide ve hastalık durumunda farklı roller oynayan yolaklardır.

Apoptozun Mitokondri (İntrensek) Yolağı

Mitokondrilerde apoptozu başlatabilen çeşitli proteinler vardır. Bunlar sitokrom c ve endojen apoptoz inhibitörlerini nötralize eden proteinlerdir. Hücrenin ölmesi veya yaşamaya devam etmesi arasındaki tercih, prototipi Bcl-2 olan 20'den fazla sayıda protein tarafından denetlenen mitokondri geçirgenliği ile belirlenir. Hücreler büyüme faktörlerinden ve diğer yaşam sinyallerinden yoksun kaldıklarında veya DNA'ya zarar verecek etkenlerle karşılaştıklarında ya da hatalı katlanmış proteinleri çok miktarda biriktirdiklerinde, çok sayıda sensör aktif duruma geçer. Bu sensörler Bcl-2 ailesinin, "BH3 proteinleri" olarak adlandırılan üyeleridir. (Çünkü bunlar Bcl-2 ailesinin korunmuş domainlerinden üçüncüsünü içerirler.) BH3 proteinleri, ailenin Bax ve Bak adı verilen, proapoptotik iki üyesini aktive eder. Bunlar da dimerize olup mitokondri membranına girer ve sitokrom c ile diğer mitokondri proteinlerinin sitozole geçebileceği kanallar oluştururlar. Yine aynı sensörler Bcl-2 ve Bcl-xL adlı anti-apoptotik molekülleri inhibe ederek mitokondri proteinlerinin sitozole geçmesini kolaylaştırır. Sitokrom c, diğer bazı kofaktörlerle birlikte kaspaz-9'u aktive eder. Mitokondriden sitozole geçmiş olan diğer proteinler, apoptozun fizyolojik inhibitörleri olarak iş gören kaspaz antagonistlerini bloke eder. Tüm bu etkileşimlerin net sonucu, hücre çekirdeğinin parçalanmasıyla sonuçlanan kaspaz olaylar dizisinin aktivasyonudur. Oysa hücreler büyüme faktörlerini ve diğer yaşam sinyallerini almaya devam ettiklerinde Bcl-2 ailesinin anti- apoptotik üyelerini sentez ederler. Bunların iki ana tipinden biri Bcl-2'nin bizzat kendisi, diğeri Bcl-xL'dir. Bu proteinler Bax ve Bak proteinlerini antagonize ettiklerinden, pro-apoptotik proteinlerin mitokondriden çıkışını sınırlar. Büyüme faktörlerinden yoksun kalan hücreler yalnızca Bax ve Bak proteinlerini aktive etmekle kalmaz.

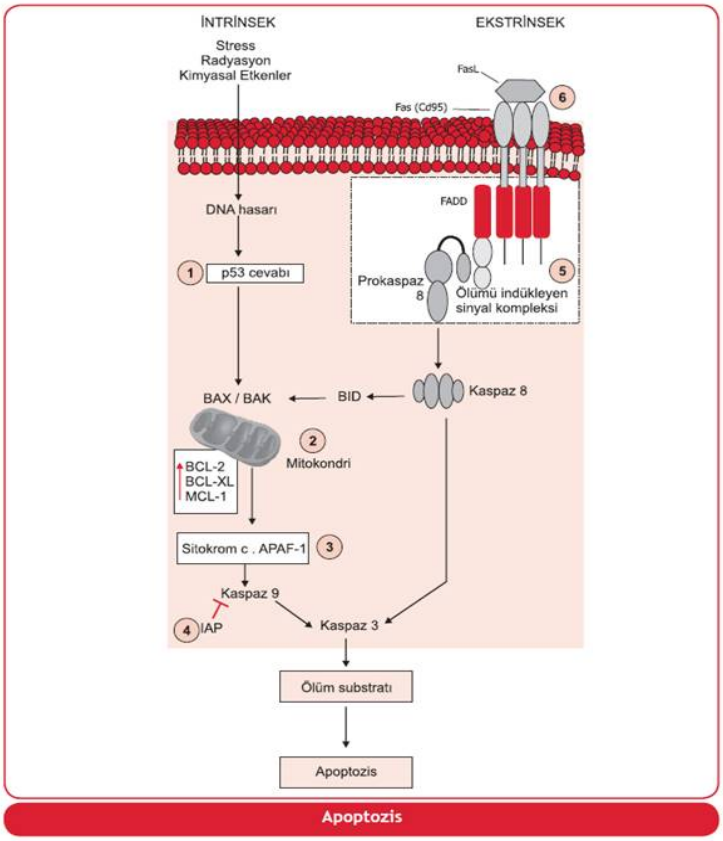
Ayrıca Bcl-2 ve BclxL düzeylerini de azaltarak dengenin, hücre ölümü yönünde daha fazla değişmesine yol açarlar. Mitokondri yolağı, daha sonra da anlatılacağı gibi, çoğu durumdaki apoptozdan sorumlu gibi görünmektedir.

Apoptozun Ölüm Reseptörü (Ekstrensek) Yolağı

Birçok hücrenin yüzeyinde, ölüm reseptörleri adı verilen ve apoptozu tetikleyen moleküller vardır. Bunların çok büyük bölümü, tümör nekroz faktörü (TNF) reseptör ailesinin üyesidir. Bunların sitoplazma bölgelerinde, hücre ölümünde rolü olan diğer proteinlerle etkileşime girmeleri nedeniyle bu şekilde adlandırılan bir "ölüm bölgesi" vardır. Tip 1 TNF reseptörü ve Fas (CD95), ölüm reseptörlerinin prototipidir. Fas ligandı (FasL), öncelikle aktive T lenfositlerinin yüzeyinde eksprese edilen bir membran proteinidir. Söz konusu T hücreleri Fas taşıyan hedefleri tanıyınca, Fas molekülleri FasL ile çapraz bağlar yapar ve ölüm bölgesi aracılığı ile adaptör proteinlere bağlanır. Bu bağlanma, kaspaz-8 enzimini bölgede toplayarak aktive eder. Kaspaz-8, birçok hücre tipinde, Bcl-2 ailesinin pro- apoptotik Bid adlı üyesini bölüp aktive ederek mitokondriyal apoptoz yalağını besler. Her iki apoptoz yalağının beraberce aktif duruma geçmesi, hücrelere ölümcül bir darbe vurur. Hücre proteinleri, özellikle de FLIP adıyla bilinen bir kaspaz antagonisti, ölüm reseptörünün kaspaz tarafından aktivasyonunu önler. İlginç olarak, bazı virüsler FLIP homologlarını üretir. Virüslerin bu mekanizmayı, erıfekte hücreleri canlı tutmak amacıyla kullandığı öne sürülmektedir. Ölüm reseptörü yolağı kendi kendilerine karşı reaktif (self reactive) lenfositlerin ortadan kaldırılmasında ve hedef hücrelerin, sitotoksik T lenfositleri tarafından öldürülmesinde rol oynamaktadır.

Kaspazların Aktivasyonu ve Fonksiyonu

İntrensek ve ekstrensek apoptoz yalakları, sırasıyla kaspaz-9 ve -8 adlı, öncü kaspazları aktive eder. Bu enzimlerin aktif şekilleri, infazcı kaspazlar adı verilen, başka bir seri kaspazı bölerek aktive eder. Bu aktive kaspazların çok sayıda hedefi etkilemesi DNA'yı ve nükleer proteinleri parçalayan nükleaz enzimlerinin aktivasyonuyla sonuçlanır. Kaspazlar ayrıca çekirdek matriksinin ve hücre iskeletinin diğer bileşenlerinin yıkımına da neden olarak hücrenin parçalanmasına yol açarlar.



Apoptotik Hücrelerin Temizlenmesi

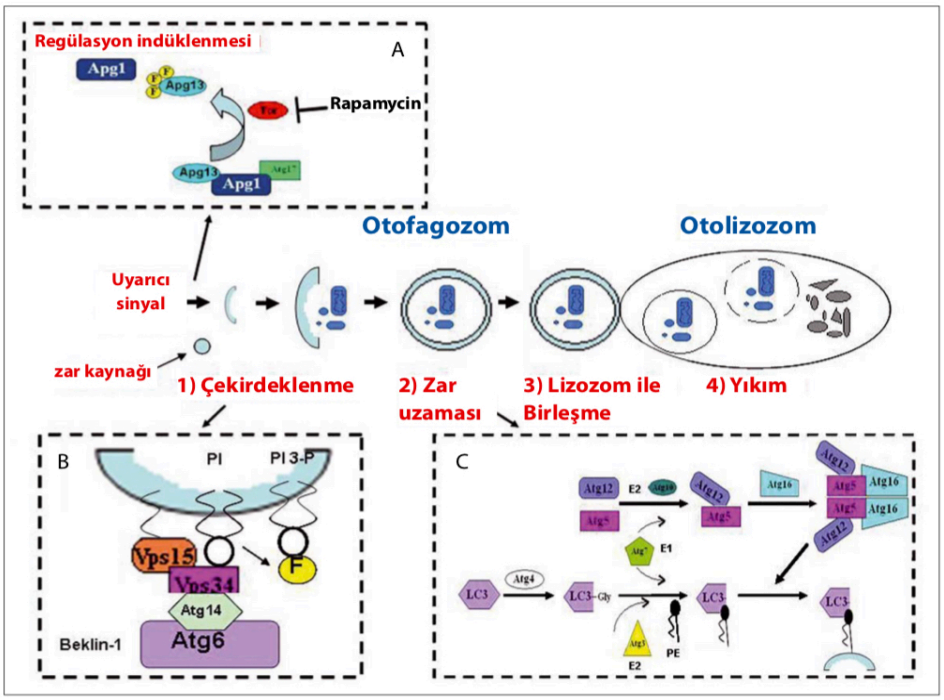
Apoptotik hücreler "ye beni" sinyalleri oluşturarak fagositleri kendilerine çekerler. Fosfatidilserin normal hücrelerde, plazma membranının iç yaprağında bulunur ama apoptoz gerçekleştiğinde, dış yaprağa geçer ve burada doku makrofajları tarafından tanınarak, ölen hücrenin fagosite edilmesine yol açar. Apoptozla ölmekte olan hücreler ayrıca, fagositleri çeken çözünür faktörler de salgılar. Bu olay ölü hücrelerin, sekonder membran hasarına uğramadan ve inflamasyon başlatabilecek içeriklerini salıvermeden hızla temizlenmesini kolaylaştırır. Bazı apoptotik cisimcikler, fagositler tarafından tanınan yapışkan glikoproteinler taşır. Makrofajlar da apoptotik hücrelere (canlı hücrelere değil) bağlanarak bunların fagositoz hedefi olmalarını sağlayan proteinler üretebilir. Çok sayıda makrofaj reseptörünün, apoptotik hücrelerin bağlanma ve fagositozunda rol oynadığı gösterilmiştir. Apoptoz sonucu ölen hücrelerin geçirdiği bu fagositoz süreci öylesine etkindir ki, ölü hücreler iz bırakmaksızın yok olur ve hemen hemen hiç inflamatuar yanıt meydana gelmez.

Nekrozla apoptoz arasındaki farkların önemi vurgulandı, ama bu iki çeşit hücre ölümü, birlikte de gerçekleşebilir ve aralarında mekanik ilişki bulunabilir. Örneğin apoptozda görülen DNA hasarı, poli-ADP(riboz) polimeraz adlı bir enzimin aktive olmasına yol açar. Bu enzim hücrenin nikotinamid adenin dinükleotid depolarını boşaltarak ATP düzeylerinin düşmesine ve sonunda nekroza neden olur. Aslında, iskemi gibi sık karşılaşılan durumlarda bile erken hücre ölümünün kısmen apoptozla ve daha sonra iskemi ağırlaştıkça bunun üzerine eklenen nekrozla gerçekleştiği öne sürülmüştür.

OTOFAJİ

Otofaji "kendi kendini yeme" hücrenin, kendi bileşenlerini sindirmesi anlamına gelen bir terimdir. Hücrenin besin miktarı yetersiz kaldığında başvurduğu bir çeşit yaşamını sürdürme mekanizması olan otofajide aç kalan hücre yaşamını, kendi içeriğindeki bileşenlerini yiyerek ve bunları, besleyici madde ve enerji sağlamak üzere yeniden kullanarak devam ettirir. Bu süreçte hücre içi organeller ve sitozol parçaları; endoplazmik retikulumun ribozomsuz bölgelerinden oluştuğu varsayılan bir otofaji vakuolü içerisinde tecrit edilir. Bu vakuol lizozomlarla birleşerek otofagolizozom adlı oluşumu meydana getirir ve hücre bileşenleri, otofagolizozomun içindeki enzimler tarafından sindirilir. Otofaji, besleyici maddenin azaldığını algılayarak otofaji vakuolü oluşumunu uyaran protein kompleksleri tarafından başlatılır. Yeterince beslenemeyen hücre zamanla yaşamını, kendi kendini yiyerek bile sürdüremeyeceği bir aşamaya gelir; bu aşamada otofaji, hücrenin apoptozla ölmesi için gerekli sinyali verebilir.

Otofaji ayrıca, örneğin nöronlardaki ve hepatositlerdeki hatalı katlanmış proteinlerin teınizlenınesi amacıyla da kullanılır. Otofaji mekanizmasının kusurlu olması, söz konusu proteinlerin nöron içerisinde birikerek sinir hücresinin ölümüne ve buna bağlı olarak nörodejeneratif hastalıkların gelişmesine neden olabilir. Oysa otofajinin ilaçlarla aktivasyonu hayvan modellerinde, hatalı katlanmış proteinlerin karaciğer hücrelerinde birikmesini sınırlar ve böylelikle, karaciğerdeki fibrozu azaltabilir. Otofajide rolü olan bir gendeki polimorfizmler, inflamatuvar bağırsak hastalığı ile ilişkilidir, ancak otofajiyle bağırsak inflamasyonu arasındaki mekanik ilişkinin ne olduğu bilinmemektedir. Bir zamanlar pek az önemsenmiş olan bir hücre hayatta kalma mekanizmasının, insanlardaki hastalıklarda çok çeşitli roller üstlendiği ortaya konulabilir.



Şekil 1. Otofajik kesecik oluşumunda rol oynayan mekanizmalar. **A.** mTor kompleksi; **B.** Lipid kinaz Vps34, düzenleyici enzim Vps15 ve Atg6'dan (*Beclin*) oluşan PI3K kompleksi; **C.** İki ubikitin benzeri mekanizmanın rol oynadığı zar uzaması.

Hücre hasarınnda ve hücre ölümününde anlattığımız bu süreçler, sık karşılaşılan birçok hastalığın temel nedeni kimliği taşımaktadır. Bunların yanında ek olarak üç sürecü daha ele alalım . Bunlar çeşitli maddelerin hücre içinde birikmesi, kalsiyumun hücre dışında birikmesi (bunların her ikisine de çoğu zaman hücre hasarı eşlik eder) ve hücrenin yaşlanmasıdır.

HÜCRE YAŞLANMASI

Bireyler, hücreleri yaşlandığı için yaşlanır. İnsanların yaşlanma sürecine duydukları ilgi geleneksel olarak bu sürecin kozmetik belirtileri üzerinde odaklanmışsa da, yaşlanma, bireyin yaşının kanser, Alzheimer hastalığı ve iskemik kalp hastalığı gibi birçok kronik hastalık konusundaki en güçlü bağımsız risk faktörü olması nedeniyle, sağlık bakımından önemli sonuçlara sahiptir. Hücre yaşlanmasının yalnızca hücrenin "yakıtının bitmesi" gibi basit bir olayın sonucu olmayıp, gerçekte evrimsel açıdan maya mantarı hücresinden memelilere kadar korunmuş olan, sınırlı sayıda gen ve sinyalizasyon yolu tarafından düzenlendiğinin keşfedilmesi; hücre yaşlanmasıyla ilişkili, belki de en önemli keşiflerden biridir.

Hücre yaşlanması, hücrelerin ömürlerinin ve fonksiyonel kapasitelerinin progresif bir şekilde azalması sonucudur. Hücre yaşlanmasının sorumlusu olduğu düşünülen, çok sayıda mekanizma vardır.

• **DNA Hasarı:** Zaman içinde biriken çeşitli metabolik etkenler, nükleer ve mitokondriyal DNA'da hasara neden olabilir. DNA hasarının çok büyük bir bölümü DNA onarım enzimleri tarafından onarılsa da, bir bölümü onarılamaz ve hücre yaşlandıkça hasarlı DNA birikir. Kimi yaşlanma sendromları DNA onarım mekanizmalarındaki defektlere eşlik eder. Bazı hayvan modellerinde, DNA hasarına verilen yanıtlar güçlendirildiğinde, ya da hücreye DNA'yı stabilize eden proteinler verildiğinde deneysel hayvanın ömrü uzatılabilmiştir. Serbest radikallerin yaşlanmaya yol açan DNA hasarında rolü olduğu öne sürülmüşse de, bu tartışma konusu olmaya devam etmektedir.

• **Hücre çoğalmasında azalma:** Tüm normal hücreler sınırlı bir çoğalma kapasitesine sahiptir. Sabit sayıdaki hücre bölürımesinden sonra, hücreler, bölünmenin artık söz konusu olmadığı, replikatif yaşlanma olarak adlandırılan bir aşamada durur. Yaşlanma, hücrelerin ilerleyici biçimde replikatif yaşlanma eşlik eder. Çocukların hücreleri, yaşlıların hücrelerinden çok daha fazla çoğalma kapasitesine sahiptir. Oysa, erken yaşlanmayla karakterize, ender görülen bir hastalık olan Werner sendromunda hücrelerin in vitro ömrü önemli ölçüde kısalmıştır. İnsan hücrelerinde çoğalma fonksiyonunun yaşlanması, telomerlerin giderek kısalması ve en sonunda hücre siklüsünün durmasıyla olur. Telomerler, lineer kromozomların uçlarında yer alan, kısa, tekrarlayan DNA sekanslarıdır. Bu yapılar, kromozom uçlarının tam olarak çoğalmasının garanti altına alınmasında, füzyondan ve parçalanmaktan korunmasında önemli rol oynarlar. Somatik hücreler çoğaldığında, telomerin küçük bir bölümü duplike olamaz ve telomerler gittikçe kısalır.Telomer kısaldıkça, kromozom uçları korunamaz ve hücre siklüsünün durduğunu haber veren, parçalanmış DNA olarak gözükür. Telomer uzunluğu, telomeraz olarak adlandırılan bir enzimin aracılık ettiği nükleotid ilavesiyle korunur. Bu enzim, kromozom uçlarına nükleotid ilavesi için kalıp olarak bizzat kendi RNA'sını kullanan, özelleşmiş bir RNA protein kompleksidir. Germ hücrelerinde eksprese edilen, kök hücrelerde ise düşük düzeylerde olan telomeraz aktivitesi, somatik hücrelerin çoğunda mevcut değildir. Somatik hücrelerin çok büyük bir bölümünde, hücre yaşlandıkça telomerler kısalır ve hücre, hücre siklusundan çıkar.

Sonuçta, hasar görenlerin yerine yeni hücreler oluşturma yeteneği ortadan kalkar. Aksine, ölümsüz hale gelmiş kanser hücrelerinde telomeraz aktivitesi genellikle yeniden kazanılmıştır. Bu sayede, telomer uzunluğu kısalmaksızın kalır ve kanser hücrelerinin sonsuz bir çoğalma kapasitesine sahip olması sağlanır. Telomer kısalması ayrıca, kök hücrelerin rejenerasyon kapasitesini de azaltarak hücre yaşlanmasına daha da katkıda bulunur. Tüm bu çekici gözlemlere rağmen, telomeraz aktivitesi ve telomer uzunluğunun hücre yaşlanması ile ilişkisi henüz tam olarak aydınlatılmış değildir.

• **Kusurlu protein homeostazı:** Zaman içerisinde, hücreler normal protein homeostazını devam ettiremez hale gelirler. Bunun nedeni, protein translasyonunun azalması, şaperonların (proteinlerin normal katlanmasını artırır), proteazomların (hatalı katlanan proteinleri ortadan kaldırır) ve onarım enzimlerinin aktivitesinin kusurlu olması sonucu artan protein döngüsü ve azalan protein sentezidir. Anormal protein homeostazı hücre sağkalımı, çoğalması ve fonksiyonları üzerinde birçok olumsuz etkiye sahiptir. Ayrıca hatalı katlanmış proteinlerin birikmesine yol açarak, apoptozu tetikleyebilir.

Yaşlanma sürecine karşı çıkan sinyalizasyon yollarının belirlenmesi, yalnızca tedavi potansiyeli ("gençlik iksiri" araştırmaları) bakımından değil, ayrıca yaşlanma sürecinin mekanizması hakkında bize anlatabilecekleri nedeniyle de, büyük ilgi çeken bir konudur. Şimdilerde; kalori kısıtlaması gibi belirli çevresel streslerin, yaşlanma sürecindeki sinyalizasyon yollarında değişikliğe neden olduğu düşünülmektedir. Yaşlanma sürecine karşı rol oynadığı öne sürülen biyokimyasal değişiklikler arasında, insülin-benzeri büyüme faktörü reseptörlerinden gelen sinyallerin azalması, kinaz (rapamisin hedefi, [TOR], AKT kinaz) enzim aktivitesinde azalma ve transkripsiyon aktivitesindeki değişiklikler yer almaktadır. Sonunda bu değişiklikler, daha iyi DNA onarımı, daha iyi protein ho- meostazı ve daha iyi immunite sağlar. Tüm bu etkiler yaşlanmayı yavaşlatır. Çevresel stresler, protein deasilaz fonksiyonuna sahip Sir2 gibi Sirtuin protein ailesi proteinlerini aktive edebilir. Bu proteinler, DNA tamir enzimlerini deasilleyerek aktive eder ve bu şekilde DNA'yı stabilize edebilir. Söz konusu proteinler yoksa DNA, hasar görmeye daha yatkındır. Sirtuinlerin rolü yakın zamanlarda fazlasıyla dikkat çekmişse de, bunların yaşlanma sürecindeki önemi henüz belirlenebilmiş değildir.

Bu bölümde anlatılan, hücrelerdeki çeşitli düzensizliklerin ve adaptasyonların kapsamının çok geniş olduğunun altını çizmek gerekir. Bu kapsamda hücre boyutlarındaki, çoğalmasındaki ve fonksiyonundaki adaptasyonlardan, geri dönüşlü ve geri dönüşsüz akut hücre hasarına ve apoptozla temsil edilen, belirli bir programa uygun şekilde gerçekleşen hücre ölümüne kadar değişen bir spektrum yer alır. Tüm organ hasarı olayları ve bunların sonundaki tüm klinik hastalıklar, hücre yapısındaki ve fonksiyonundaki düzensizliklerden kaynaklanmaktadır.

İNFLAMASYON

Tüm organizmaların, yaşamlarını devam ettirebilmek için; enfeksiyon etkenleri gibi yabancı istilacıları ve hasarlı dokuları uzaklaştırmaya ihtiyacı vardır. Bu fonksiyonlar, inflamasyon adı verilen karmaşık bir konak yanıtı aracığıyla yerine getirilir. İnflamasyon; konak hücrenin, kan damarlannın, proteinlerin ve diğer medyatörlerin, hücre hasarını başlatan nedeni ve bu neden yüzünden nekroza uğrayan hücre ve dokuları ortadan kaldırmaya çalıştığı ve onarım sürecini başlattığı, koruyucu bir yanıttır. İnflamasyon bu koruyucu görevini önce; mikroplar, toksinler gibi zararlı etkenleri seyrelterek, imha ederek veya diğer yollardan nötralize ederek yerine getirir. Ardından da, sonuçta zedelenmeye sahne olan yerleri iyileştirecek ve onaracak olayları harekete geçirir. İnflamasyon olmasaydı enfeksiyonlar başıboş bir şekilde sürecek ve yaralar hiçbir zaman iyileşmeyecekti. Enfeksiyonlar bağlamında inflamasyon, immünoloji uzmanlarının "doğal bağışıklık" olarak adlandırdıkları, koruyucu yanıtın bileşenlerinden biridir.

İnfiamasyon, enfeksiyonların ve diğer zararlı uyaranların temizlenmesine yardım eder ve onarım sürecini başlatır ama bizzat inflamatuar reaksiyon ve bunu izleyen onarım süreci de, hatırı sayılır hasara yol açabilir. İnflamatuar reaksiyonun mikropları ve ölü dokuları imha edip ortadan kaldıran bileşenleri, normal dokulara zarar verebilme yeteneğine de sahiptir. Hasara tamamen normal, yararlı inflamatuar reaksiyonlar eşlik edebilir ama bu reaksiyon çok güçlüyse (ör. enfeksiyon ağır ise), uzun sürerse (ör. hasara yol açmış olan etken, ortadan kaldırılmaya direniyorsa) veya uygun değilse (ör. otoimmün hastalıklarda olduğu gibi kişinin kendi antijenlerini ya da allerjik hastalıklarda olduğu gibi çevredeki, genellikle zararsız antijenleri hedef alınışsa) inflamasyona eşlik eden hasar, inflamatuar reaksiyonun baskın özelliği durumuna gelebilir. İnsanlardaki en can sıkıcı hastalıklardan bazıları, uygun olmayan, sıklıkla da kronik inflamasyon nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Görüldüğü gibi inflamasyon süreci, klinik tıbbın tamamında temel öneme sahiptir.

Aralarında lökositler ve plazma proteinlerinin de bulunduğu, konak savunmasında rol oynayan hücreler ve moleküller normal olarak kan dolaşımında bulunur. İnflamatuar reaksiyonun amacı bunları enfeksiyon veya doku hasarı olan yere getirmektir. Ayrıca damar duvarlarının yerleşik hücreleriyle, ekstrasellüler matriksin (ESM) hücre ve proteinleri de inflamasyonda ve onarımda rol oynar.

İnflamasyon sürecinin ayrıntılarına girmeden önce, bu sürecin bazı temel özelliklerden söz edeceğiz.

İnflamasyon akut veya kronik olabilir. Akut inflamasyon çabuk başlar ve kısa süre devam edip birkaç dakikayla birkaç gün arasında değişen bir zaman geçtikten sonra biter. Sıvı ve plazma proteinlerinin eksudasyonuyla, öncelikle nötrofil lökositlerin ön planda olduğu hücre infiltrasyonu, akut inflamasyonun karakteristik özellikleridir. Kronik inflamasyon daha sinsi olabilir, günlerle yıllar arasında değişebilen daha uzun bir süre boyunca devam eder, inflamasyon odağındaki hücre infiltrasyonunda tipik olarak lenfositler ve makrofajlar vardır; bu hücre infiltrasyonuna damar proliferasyonu ve fibrozis (nedbeleşme) eşlik eder. Ancak, daha sonra da göreceğimiz gibi inflamasyonun bu temel iki şekli, birlikte de mevcut olabilir; bunların seyrini ve histolojik görünümü, birçok değişkene bağlı olarak değişebilir.

İnflamasyon, konak hücre tarafından zararlı uyaranlara karşı yanıt olarak, kimyasal medyatörlerin üretilmesiyle başlar. Bir mikrop bir dokuya girer ya da doku zedelenirse, dokudaki yerleşik hücreler tarafından algılanır. Bu hücreler daha çok makrofajlardır ama dendritik hücreler, mast hücreleri ve diğer hücre tipleri de bu anormalliğin farkına varabilir. Bütün bu hücreler, daha sonra gelişecek inflamatuar yanıtı başlatan ve düzenleyen moleküller (sitokinler ve diğer medyatörler) salgılar. İnflamatuar medyatörler ayrıca, mikroplarla ya da zedelenmiş olan dokularla reaksiyona giren plazma proteinleri tarafından da üretilir. Söz konusu medyatörlerin bazıları, plazma ve dolaşımdaki lökositlerin inflamasyon yerine gelmesini teşvik eder. Gelen lökositler aktive olarak inflamasyon etkenini fagositoz yoluyla ortadan kaldırmaya çalışır. Lökositlerin konağın normal dokularına da zarar verebilmesi, lökosit aktivasyonunun talihsiz bir yan etkisidir.

Sıcaklık (calor), kızarıklık (rubor), şişme (tumor), ağrı (dolar) ve fonksiyon kaybı (Junctio laesa); inflamasyonun, çoğu zaman "kardinal belirtiler' adı verilen dış belirtileridir. Bunların ilk dördü, Romalı bir ansiklopedist olan Celsus tarafından 2000 yılı aşan bir süre önce tanımlanarak, zamanının tanınmış bir eseri olan De Medicina adlı kitabında yer almış; beşincisi ise 19. yüzyılın sonlarında, "modern patolojinin babası" olarak bilinen Rudolf Virc- how tarafından eklenmiştir. İnflamasyonun kardinal belirtileri; şimdi anlatacağımız gibi damar değişikliklerinin ve lökositlerin inflamasyon yerine gelerek aktive olmalarının doğurduğu sonuçlardır.

İnflamasyon, normalde denetim altındadır ve kendi kendini sınırlar. Medyatörler ve hücreler yalnızca zararlı uyarana yanıt vermek üzere ve kısa bir süre için aktive olur; zararlı uyaran uzaklaştırıldığında parçalanır veya inaktive olur. Zararlı uyaran çabucak uzaklaştırılamazsa sonuç, ciddi patolojik sonuçlar doğurabilecek olan kronik inflamasyondur.

AKUT İNFLAMASYON

Akut inflamatuar yanıt, lökositlerin ve plazma proteinlerinin hızla inflamasyon yerinde toplanmasını sağlar. Lökositler inflamasyon yerine geldiklerinde, istilacıları temizleyerek, nekrotik dokuların sindirilip ortadan kaldırılma sürecini başlatır.

Akut inflamasyonun başlıca iki bileşeni vardır:

• Vasküler değişiklikler: Damar çapındaki değişiklikler (vazodilatasyon), inflamasyon yerine gelen arteriyel kan miktarını artırır; damar duvarındaki değişiklikler (geçirgenlik artışı) ise plazma proteinlerinin kan dolaşımını terk etmesini sağlar. Ayrıca endotel hücrelerinin de aktive olması, lökositlerin damar duvarından geçerek inflamasyon yerine göç etmesiyle ve yapışkanlıklarının (adezyon) artmasıyla sonuçlanır.

• Hücre olayları: Lökositlerin kan dolaşımından inflamasyon yerine göç etmesi, ardından aktivasyonu; inflamasyona yol açan zararlı uyaranın ortadan kaldırılmasını sağlar. Nötrofiller (polimorf nüveli lökositler), akut inflamasyonda rol oynayan başlıca lökositlerdir.

AKUT İNFLAMASYONDAKİ UYARANLAR

Akut inflamatuar reaksiyonlar, çeşitli uyaranlar tarafından tetiklenebilir:

• Enfeksiyonlar (bakteri, virüs, mantar, parazit enfeksiyonları), akut inflamasyonu en fazla uyaran ve tıbbi önem taşıyan nedenler arasındadır.

• Travma (künt ve delici) ve çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenler (örneğin yanıklar veya donma gibi aşırı ısı değişiklikleri; radyasyon; çevredeki belirli kimyasalların toksik etkileri) konak hücrelerine zarar vererek inflamatuar reaksiyonlara neden olur.

• Doku nekrozu (ne nedenle olursa olsun), örneğin miyokard infarktüsündeki gibi iskemi ve fiziksel ve kimyasal hasar.

• Yabancı cisimler (kıymık parçaları, sütürler, toz/toprak, kristaller)

•Bağışıklık (aşırı duyarlılık da denir) reaksiyonları çevresel antijenlere veya bireyin "kendi" dokularına karşı gelişir; bu inflamatuar yanıta yol açan nedeni ortadan kaldırmak ya da bu nedenden sakınmak çoğu zamana mümkün olmadığından, söz konusu reaksiyonlar, kronik inflamasyonla birlikte seyretme ve inatçı olma eğilimi taşır. Bu grup hastalıkları tanımlamak için bazen "bağışıklık aracılığıyla gelişen inflamatuar hastalıklar" deyimi kullanılır.

Bu uyaranların her biri, kendilerine özgü özellikler taşıyan inflamatuar reaksiyonları başlatırlarsa da bütün inflamatuar reaksiyonlar aynı temel özelliklere sahiptir.

VASKÜLER DEĞİŞİKLİKLER

Kan akımının vazodilatasyon nedeniyle artması ve damar geçirgenliğindeki artış, akut inflamasyondaki başlıca vasküler reaksiyonlardır; her ikisinde de amaç, kan hücrelerini ve proteinleri, enfeksiyon veya hasar bölgesinde toplamaktır. Zedelenmeye yol açan uyaranın, örneğin bir mikrobun ilk karşılaştığı savunma hattı, makrofajlar ve bağ dokusunun diğer hücreleridir. Bu etkileşimin hemen ardından tetiklenen vasküler reaksiyonlar inflamatuar yanıtın erken fazına hakim olur.

Damar Çapındaki ve Kan Akımındaki Değişikikler

Kan damarlarındaki değişiklikler, enfeksiyondan veya zedelenmeden hemen sonra başlar ama inflamasyona yol açan orijinal uyaranın tabiatına ve şiddetine bağlı olarak, değişik hızlarda ilerler.

• Yalnızca birkaç saniye devam eden, geçici vazokonstriksiyondan sonra arteriyoler vazodilatasyonun gelişmesi, lokal kan miktarının artmasıyla ve vazodilatasyonun gerçekleştiği arteriyolden beslenen kapiler yataklarının aşırı dolmasıyla (konjesyon) sonuçlanır. Akut inflamasyonun kardinal belirtilerinden ikisinin, yani inflamasyon odağındaki kızarıklığın (erytlıenıa) ve sıcaklığın (calor) nedeni, damar yatağındaki bu genişlemedir.

• Mikro damarların geçirgenliği artar ve protein bakımından zengin sıvı damar dışı dokulara sızmaya başlar. Bu olay, kanın alyuvar bakımından daha konsantre olmasına, bu nedenle de viskozitesinin artmasına dolaşımın yavaşlamasına neden olur.

• Staz geliştiğinde, lökositler (öncelikle nötrofiller), damar endotelinin yüzeyinde birikmeye başlar; bu gelişmeye marjinasyon adı verilir. Marjinasyon, lökositlerin damar duvarından geçerek interstisyel dokuya doğru yapacakları, daha sonra anlatacağımı inflamasyon senasryosunun ilk aşamasıdır.

Damar geçirgenliğinin artması, protein bakımından zengin kanın, hatta kan hücrelerinin damar dışı dokulara geçmesine yol açar. Bu geçiş, interstisyel sıvıdaki ozmotik basıncı yükselterek kandan dokular yönüne daha fazla sıvı geçmesine neden olur. Protein bakımından zengin bu interstisyel sıvıya eksuda adı verilir. Ozmotik basıncın artmasından kaynaklanan eksudayı, genellikle venöz dönüşün azalması sonucu gelişen hidrostatik basınç artışına bağlı transudayla karıştırmamak gerekir. Transudadaki protein konsantrasyonu çok düşüktür ve bu sıvı, kan hücrelerini ya hiç içermez ya da pek az içerir. İster transuda, isterse eksuda olsun damar dışı aralıkta sıvı birikmesi, doku ödemine neden olur. Eksuda tipik olarak inflamasyonun bir özelliğiyken transuda inflamasyon dışı çeşitli nedenlere bağlı olarak birikebilir.

Damar geçirgenliğinin akut inflamatuar reaksiyonlarda artmasına, çeşitli mekanizmalar katkıda bulunabilir:

• Postkapiller venüllerde, endotel hücrelerinin retraksiyonu sonucu hücreler arası açıklıklar meydana gelmesi, damar geçirgenliğini artıran nedenlerin en sık görülenidir. Endotel hücresi retraksiyonu; histaminin, bradikininin, lökotrienlerin ve diğer birçok medyatörün spesifik reseptörlerine bağlanmasından sonra hızla gerçekleşir ve kısa sürelidir (15-30 dakika devam eder). Bu hücrelerde; tümör nekroz faktörü (TNF) ve interlökin-1 (IL-1) gibi sitokinler nedeniyle meydana gelerek hücre iskeletinde değişiklikleri de beraberinde getiren, daha uzun süreli retraksiyon görülebilir. Gelişmesi, inflamatuar reaksiyonun başlangıçta tetiklenmesinden 4-6 saat sonra gerçekleşebilen bu retraksiyon, 24 saat ya da daha uzun süre devam edebilir.

• Endotel hasarı, bu hücrelerde nekroza ve ayrılmalara yol açarak damar dışına sızma nedeni olabilir. Bu hücreler, ağır yanıklar ve bazı enfeksiyonlar gibi travmalardan sonra hasar görür. Sızıntı, çoğu vakada zedelenmeden hemen sonra meydana gelerek, hasarlı damar tromboze olana ya da onarılana kadar, saatlerce (veya günlerce) devam eder. Endotel hasarı, zedelenmenin yerine bağlı olarak venüllerin, kapilerlerin ve arteriyollerin hepsinde meydana gelmiş olabilir. Örneğin; endotel hücrelerinin doğrudan hasarı da venüllerde veya kapillerlerde 2-12 saat sonra (geç) başlayan; saatlerce, hatta günlerce devam eden sızıntıya neden olabilir.

Hafif orta şiddette termal zedelenme, belirli bakteri toksinleri ve ultraviyole ışınlara maruz kalınması (gün boyunca güneş altında kalınmasını izleyerek "akşamı zehir eden" güneş banyoları), endotel hücrelerine doğrudan hasar verebilir. Lökositlerin damar duvarı boyunca birikmesi de, endotele zarar verebilir. Aktive lökositlerden, endotel zedelenmesine veya hücrelerin birbirlerinden ayrılmasına yol açabilen, daha sonra ele alacağımız, çok sayıda toksik medyatör salınmaktadır.

• Proteinlerin, hücre içi veziküllerin işe karıştığı, artmış transsitozu; özellikle vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) gibi belirli medyatörlere maruz kalınmasının ardından venül geçirgenliğini artırabilir. Transsitoz, hücre içi veziküllerin birleşmesiyle oluşan kanallar yoluyla gerçekleşir.

• Yeni oluşan kan damarlarından sızıntı, Doku onarımı, yeni damar oluşumunu (anjiyogenez) gerektirir. Bu damar filizleri, prolifere endotel hücreleri, hücrelerarası bağlantıları oluşturacak derecede olgunlaşıncaya kadar sızdırmaya devam edebilir. Yeni oluşan endotel hücrelerinde ayrıca, vazoaktif medyatör reseptörü ekspresyonunda artış da mevcuttur; anjiyogenezi uyaran kimi faktörler de (ör. VEGF) damar geçirgenliğini doğrudan artırabilmektedir

Damar geçirgenliği üzerinde etkili bu mekanizmalar ayrı ayrı işleyebilirlerse de; özel bir uyarana karşı verilen yanıta beraberce de katkıda bulunabilir. Örneğin, ısı yanıklarında damar dışına sızıntı, kimyasallar aracılığıyla gerçekleşen endotel retraksiyonu ile olduğu gibi, aynı zamanda doğrudan hasar ve lökositler aracılığıyla gerçekleşen endotel hasarı nedeniyle de meydana gelmektedir.

Lenf Damarlarının Yanıtı

Kan damarlarına ek olarak lenf damarları da inflamatuar yanıta katkı yapabilir. Lenf akışı inflamasyon sırasında artar ve ödem sıvısının, lökositlerin ve hücre artıklarının (debris) damar dışı aralıktan boşaltılmasına yardım eder. Özellikle mikroplara karşı gelişen, şiddetli inflamatuar yanıtlarda lenf damarları, etken mikroorganizmayı da lenf bezleri yönünde taşıyarak yayılmasına katkıda bulunabilir.

Lenf kanallarında ve lenf bezlerinde inflamasyon, sekonder olarak da gelişebilir (sırasıyla lenfanjit ve lenfadenit). İnflamasyon gelişen lenf bezleri, içerdikleri lenf foliküllerindeki hiperplazi ve lenf bezindeki sinüslerin iç yüzeyini döşeyen lenfosit ve fagosit sayılarının artmış olması nedeniyle büyüyebilir. Lenf bezindeki tüm bu patolojik değişiklikler, reaktif ya da inflamatuar lenfadenit adıyla bilinir. Bir yaranın yakınındaki deride kırmızı çizgilerin belirmesi doktorlara, yara enfeksiyonu geliştiğini bildiren bir belirtidir. Bu çizgiler, lenf kanallarının trasesini izler ve lenfanjit tanısı açısından karakteristiktir; çizgilere, bölgedeki lenf bezlerinde ağrılı şişlik eşlik edebilir ve hastada lenfanjit geliştiğini belirtir.

Hücresel Olaylar:

Lökositlerin Toplanması ve Aktivasyonu

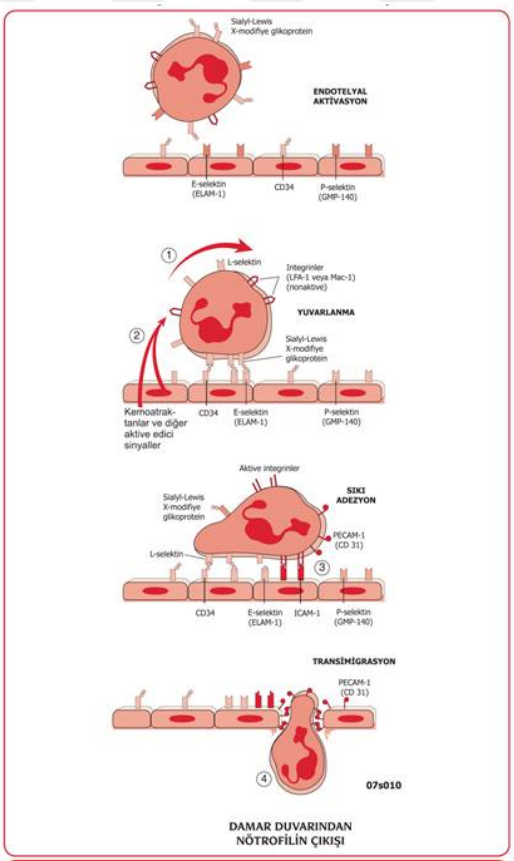
Lökositlerin hasar bölgesine ulaştırılması ve aktive edilmesi, daha önce de söylediğimiz gibi inflamatuar yanıtın önemli bir fonksiyonudur. Lökositler zararlı etkenleri kendi içine alır, bakterileri ve diğer mikropları öldürür, nekrotik dokuyu ve yabancı maddeleri ortadan kaldırır. Bir defa aktive olduklarında, mikropları imha eden lökosit ürünlerinin normal konak dokusuna da zarar verebilmesi nedeniyle, doku hasarına ve inflamasyonun uzamasına yol açabilmeleri, lökositlerin savunma gücü karşılığında ödenen bedeldir. Konaktaki savunma mekanizmaları bu nedenle; lökositlerin inflamasyon yerinde yalnızca ihtiyaç duyulduğunda (yani yabancı istilacılara ve ölü dokulara yanıt verilmesi gerektiğinde) toplanmalarını garanti altına almak içirı gerekli dengeyi kurar ve denetler. Lökositlerin sistemik aktivasyonuna aslında, septik şokta olduğu gibi zararlı sonuçlar eşlik edebilir.

Lökositlerin İnflamayon Yerinde Toplanması

Lökositler normal olarak kanda hızla dolaşan hücrelerdir ve inflamasyonda bunlann, durmalan ve tipik olarak damar dışında yer alan zararlı etkenlerin veya doku hasarının olduğu yere getirilmeleri gerekir.

Lökositlerin damar lümeninden çıkıp damar dışı aralığa geçebilmeleri için cereyan etmesi gereken olaylar dizisi:

(1) marjinasyon ve damar duvarı boyunca yuvarlanmaları; (2) endotele sıkıca yapışmaları; (3) endotel hücrelerinin arasından geçmeleri ve (4) kemotaktik bir uyarana ulaşmak üzere interstisyel dokularoa göç etmelerinden oluşur. Bu hücrelerin yuvarlanmaları, yapışmaları ve endotel hücreleri arasından geçmeleri; lökositlerdeki adezyon (yapışma) molekülleriyle endotel yüzeyi arasındaki etkileşimler aracılığıyla gerçekleşen olaylardır. Kimyasal medyatörler kemoatraktanlar ve belirli sitokinler bu süreçteki etkilerini, adezyon moleküllerinin hücre yüzeyindeki varlığını ve bağlanma afinitesini etkileyerek ve lökositlerin belirli bir yöne gitmesini uyararak gerçekleştirilir.



Damar duvarından nötrofilin çıkışı

Marjinasyon ve Yuvarlanma: Kan akışı kapiler damarlardan postkapiller venüllere geçtiği zaman dolaşımdaki hücreler, bu akışın laminar özelliği nedeniyle damar duvarına doğru itilir. Daha küçük olan alyuvarlar, akyuvarlara kıyasla daha hızlı hareket ettiğinden lökositler, akış sütununun merkezinden dışına doğru daha fazla itilir ve bu nedenle de endotel hücreleriyle etkileşime girmek için, özellikle staz durumunda daha iyi bir fırsat yakalar. Lökositlerin damar lümeninin periferine (damar duvarına doğru) toplanma sürecine, marjinasyon adı verilmektedir. Sitokinler ve lokal olarak üretilen diğer medyatörler tarafından aktive edilen endotel hücreleri, yüzeylerinde lökositlerin gevşek bir şekilde tutunacağı adezyon moleküllerini eksprese eder. Lökositler bu moleküllere tutunup ayrılarak, endotel yüzeyinde yuvarlanmaya başlar. Bu süreç yuvarlanma olarak adlandırılmaktadır.

Yuvarlanma sırasında lökositlerle endotel hücreleri arasında gerçekleşen zayıf ve geçici etkileşimlerde, medyatör olarak adezyon moleküllerinin selektin ailesi rol oynar. Selektinler, lökositlerin üzerinde ve endotelde yer alan; şekerleri bağlayan ekstrasellüler bir bölgeye sahip (adındaki lektin kısmı bu nedenledir) reseptörlerdir. Endotel hücrelerinin üzerinde yer alan E-selektin (CD62E); trombositlerin ve endotelin üzerinde yer alan P-selektin(CD62P) ve neredeyse tüm lökositlerin üzerinde yer alan L-selektin (CD62L); selektin ailesinin üç üyesidir. Selektinler; çeşitli hücrelerin müsin benzeri glikoproteinlerine tutunmuş olan siyalillenmiş oligosakaridlere (örneğin lökositlerdeki siyalil-Lewis X'e) bağlanır. Aktive olmaınış endotelde sekretinler tipik olarak ya düşük düzeydedir ya da hiç yoktur ve endotel hücrelerinin sitokinlerle veya diğer medyatörlerle uyarılmasının ardından belirir veya artar. Lökositlerin enfeksiyonu veya doku zedelenmesi bölgesindeki (sağlıklıyken medyatörleri üreten) endotele bağlanmaları, ileri derecede sınırlıdır. Örneğin, aktive olmamış endotelde P-selektin öncelikle, hücre içindeki Weibel-Palade cisimciklerinde bulunur ama histamin veya trombin gibi medyatörlerle teması izleyen dakikalar içerisinde hücre yüzeyine dağılarak lökositlerin bağlanmasını kolaylaştırır. Bunun gibi normal endotelde yine mevcut olmayan E-selektin ve L-selektin ligandı, IL-1 ve TNF sitokinleri tarafından uyarıldıktan sonra belirir.

Adezyon: Yuvarlanan lökositler endotel yüzeyinde reaksiyonlarındaki bir sonraki aşamayı (endotel yüzeyine sıkı bir şekilde yapışmayı) başlatacak değişiklikleri algılama yeteneğine sahiptir.

Yapışma, lökositlerin yüzeyinde yer alan ve endotel hücrelerindeki ligandlarıyla etkileşime giren integrinler aracılığıyla gerçekleşir.

İntegrinler; lökositlerin endotele ve çeşitli hücrelerin ekstrasellüler matrikse yapışmasında medyatör fonksiyonuna sahip olan, heterodimerik transmembran glikoproteinlerdir. Normal olarak lökositlerin plazma membranlarında yer alan integrinlerin afinitesi düşüktür ve bu integrinler, lökositler kemokinlerin etkisiyle aktive oluncaya kadar spesifik ligandlarına yapışmazlar.

Kemokinler, inflamasyon yerindeki birçok hücrenin sagıladığı, endotel yüzeyirıde yer alan, kemoattraktan sitokinlerdir. Yapışkan lökositler bu kemokinlerle karşılaştıklarında aktive olur; bu lökositlerdeki integrinler, üç boyutlu yapı değişikliklilerine uğrayarak bir araya toplanır ve düşük afiniteli formdan, yüksek afiniteli forma dönüşür. Aynı zamanda, yine enfeksiyon yerinde salgılanan, öncelikle TNF ve IL-1 olmak üzere, diğer sitokinler endotel hücrelerini, integrinlerle birleşecek ligandlarını artırmak üzere aktive ederler. LFA-l'e (CD11a/CD18, lökosit fonksiyonuna eşlik eden antijen-1) bağlanan ICAM-1 (interselüler adezyon molekü- lü), Mac-1 (CD11b/CD18; makrofaj-1) antijeni ve VLA-4'e (çok geç integrin antijeni-4) bağlanan VCAM-1 (damar hücresi adezyon molekülu), bu ligandlara örnek olarak verilebilir. İntegrinleriyle birleşen ligandlar lokositlere, substratlarına sıkıca bağlanmak üzere hücre iskeleti değişiklikleri geçirmelerinde medyatör fonksiyonuna sahip sinyaller gönderir. İntegrin afinitesinin sitokinlerle uyarılarak artmasının ve integrin ligandlarının sayısında artış meydana gelmesinin net sonucu, inflamasyon alanlarında lökositlerin endotele stabil olarak bağlanmasıdır.

Transmigrasyon: Lökositler, endotel yüzeyine sıkıca baglanmalarının ardından damar duvarından, damar dışına çıkmak üzere göç ederler. Bu göç öncelikle lökositlerin, intersellüler bağlantıları kullanarak endotel hücrelerinin arasından geçmeleriyle gerçekleşir. Lökositlerin diyapedez (diapedesis) adı verilen bu süreçle damar dışına çıkması daha çok, sistemik damarların venüllerinde görülür; diyapedeze, akciğer dolaşımındaki kılcal damarlarda da tanık olunur. Lökosit göçü, damar dışı dokularda üretilerek bu hücrelerin kimyasal gradyan uyarınca harekete geçmeleri için uyaran kemokinler tarafından yönetilir. Ayrıca, lökositlerde ve endotel hücrelerinde bulunan PE- CAM-1 (CD31; trombosit endotel hücresi adezyon molekülü-1) adlı adezyon molekülü de, lökositlerin endotelin bir tarafından diğer tarafına geçmesi için ihtiyaç duyulan bağlanma olaylarında medyatör rolü oynar.

Lökositler, endotelin diğer tarafına geçtikten sonra, vasküler bazal membrandan da aynı şekilde geçmelerini sağlayacak olan kollajenazlar salgılar.

Kemotaksi: Damar dışına çıkan lökositler, kemotaksi olarak adlandırılan bir süreçte kimyasal bir gradyan uyarınca, enfeksiyonu veya zedelenme yerine doğru hareket ederler. Hem dış kaynaklı, hem iç kaynaklı maddeler, lökositler için kemotaktik olabilir. Bunlardan bazıları:

• Bakteri ürünleri, özellikle N-formilmetiyonin terminaline sahip peptidler

• Sitokinler, özellikle kemokin ailesinin üyeleri

• Kompleman sisteminin bileşenleri, özellikle CS

• Araşidonik asit metabolizmasındaki lipoksijenaz yolunun ürünleri, özellikle lökotrien B4 (LTB4)

Bu medyatörler; enfeksiyonlara ve doku hasarına yanıt olarak, ayrıca bağışıklık reaksiyonları sırasında üretilmektedir. Lökosit infiltrasyonu tüm bu durumlarda, çeşitli medyatör kombinasyonlarının etkileri sonucunda gerçekleşir.

Kemotaktik moleküller hücre yüzlerindeki özel reseptörlere bağlanılmasını, hücre iskeletindeki kontraktil elementlerin hareket için gerekli düzeni almasını tetikler. Lökositler, oluşturdukları yalancı ayaklarla (psödopod) kendilerini hücre dışı matrikse sabitler ve daha sonra da hücre, kemotaksi yönüne doğru çekilir. Bu hareketin yönü kemokin reseptörlerinin, hücrenin ilerleme yönündeki kenarında daha yoğun olmaları sayesinde ayarlanır. Böylece lökositler, ihtiyaç duyulan yere doğru gider ve orada kalırlar.

Göç eden lökosit tipi, inflamatuvar yanıtın yaşına ve uyarının tipine göre değişir. Neredeyse tüm akut inflamasyonlarda lökosit infiltrasyonuna ilk 6-24 saatte hakim olan nötrofiller, 24-48 saat sonra yerlerini monositlere bırakırlar . Nötrofillerin ilk saatlerdeki bolluğundan, çeşitli faktörler sorumludur; nötrofiller, kandaki sayıları en yüksek olan lökositlerdir, kemokinlere daha çabuk yanıt verirler ve endotel hücrelerinin üzerinde hızla beliren P- ve E-selektin gibi adezyon moleküllerine daha sıkı tutunabilirler. Ayrıca, dokuya giren nötrofillerin ömrü kısadır ve 24-48 saat içerisinde tamamlanır; oysa monositlerin ömrü daha uzundur. Ancak, bu tip hücre infiltrasyonunun istisnaları da yok değildir. Belirli enfeksiyonlarda, örneğin Pseudomonas enfeksiyonlarında hücre infiltrasyonuna, günler boyunca sürekli olarak toplanan monositler hakimdir; viral enfeksiyonlarda en erken gelenler, lenfositler olabilir; bazı aşırı duyarlılık reaksiyonlarında tabloya, eozinofiller hakim olabilir.

LÖKOSİT AKTİVASYONU

Enfeksiyon veya doku hasarı yerinde bir kez toplandıktan sonra lökositler, fonksiyonlarını yerine getirmeleri için aktive edilmelidir. Bu aktivasyon mikroplar, nekrotik hücre ürünleri ve daha sonra anlatılacak olan çeşitli medyatörler tarafından uyarılır. Önceden de anlatıldığı gibi lökositler; mikropların, ölü hücrelerin ve yabancı maddelerin varlığını, çeşitli reseptörler kullanarak algılar. Bu reseptörlerin olaya dahil olması, lökositlerin, normal savunma mekanizmalarının bir parçası olarak çok sayıda yanıt vermelerini sağlar. Bu yanıtlar beraberce, lökosit aktivasyonu olarak adlandırılır. Lökosit aktivasyonu, aşağıdaki fonksiyonların artmasıyla sonuçlanır:

• Partiküllerin fagositozu

• Fagosite edilen mikropların ve ölü hücrelerin fagozornlarda üretilen, reaktif oksijen ve azot türevlerinin de aralarında bulunduğu maddeler ve lizozom enzimleri tarafından hücre içinde yok edilmesi

• Hücre dışındaki mikropları ve ölü dokuları yok eden ve fagositozun gerçekleştirildiği veziküllerde üretilenlerin hemen hemen aynı olan maddelerin salınması. Hücre dışında "tuzaklar" kurulması, nötrofillerin hücre dışındaki mikropları yok etmek amacıyla kullandığı, yakın zamanlarda keşfedilmiş bir mekanizmadır.

• Lökositleri bölgeye toplayıp aktive ederek inflamatuar reaksiyonu güçlendiren, araşidonik asit metabolitleri ve sitokinler gibi medyatörlerin üretilmesi

Fagositoz: Üç aşamada gerçekleşir: (1) partikülün tanınması ve içerisine alınacağı lökosite bağlanması; (2) partikülün hücre içerisine alınması ve daha sonra fagosit vakuolü oluşumu ve (3) hücre içerisine alınan materyalin öldürülmesi ve parçalanması.

Lökositler, hemen hemen tüm mikroorganizmalara ve ölü hücrelere spesifik yüzey reseptörleriyle bağlanır ve bu hücreleri içlerine alır. Bu reseptörlerden bazıları mikropların ve ölü hücrelerin bileşenlerini, diğerleri ise mikropları kaplayarak (opsonizasyon) bunları fagositoz hedefi yapan opsonin olarak adlı konak proteinlerini tanır. Mikropların yüzey antijenlerine, kompleman proteini C3'ün yıkım ürünlerine ve plazmadaki, kolektin adı verilen ve mikrop hücresi duvarlarındaki şekerlere bağlanan, karbonhidrat bağlayan lektirılere bağlanan immunoglobulin G (IgG) sınıfı antikorlar, en önemli opsoninlerdir. Söz konusu opsoninler mikropları kaplamak üzere ya kanda hazır olarak mevcuttur ya da mikroplara yanıt olarak üretilir. Lökositlerde mevcut olan opsonin reseptörleri, opsoninlerle kaplı mikropların hızla fagosite edilmesini kolaylaştırır. IgG için Fc reseptörü (FcyRI), kompleman fragmanları için kompleman reseptörleri 1 ve 3 (CRl ve 3), kollektinler için Clq, opsonin reseptörleridir.

Opsoninlerle kaplanan (opsonize) partiküllerin bu reseptörlere bağlanması, lökosit içerisine alınmalarını tetikler ve içeriye alınmış mikropların yok edilmesini hızlandıran hücre aktivasyonunu başlatır. Partiküllerin içeriye alınması sırasında lökositten uzanan yalancı ayaklar partikülün çevresini sarıp bir fagosit vakuolü oluşturur. Daha sonra bu vakuolün membranının, bir lizozom granülünün membranıyla kaynaşması granül içeriğinin, oluşan fagolizozoma boşalmasıyla sonuçlanır.

Fagosite edilen Mikroplann Oldürülmesi ve Parçalanması: Fagositoz sürecinin net sonucu, hücre içerisine alınan partiküllerin öldürülmesi ve parçalanmasıdır. Lizozomlarda mikrobisid maddelerin üretilmesi ve lizozoınla fagozomun kaynaşması, bu reaksiyondaki kilit aşamalardır. Böylece hücre içerisine alınan partiküller, lökositlerdeki parçalayıcı mekanizmalara maruz bırakılır. Reaktif oksijen türevleri ve lizozom enzimleri, en önemli mikrobisid (mikrop öldüren) maddelerdir. Reaktif oksijen türevleri, aşağıdaki aşamalardan geçilerek üretilir:

• Fagositoz ve hücrelerdeki çeşitli reseptörlerin kullanılması, oksijen tüketiminin hızla artmasıyla, glikojen katabolizmasıyla (glikojenoliz), glikoz oksidasyonundaki artışla ve reaktif oksijen türevlerinin üretilmesiyle karakterize olan oksidatif patlamayı (solunum patlamasını) uyarır. Reaktif oksijen metabolitlerinin ortaya çıkması lökositlerdeki, fagosit oksidaz olarak adlandırılan ve NADPH'ı (indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) oksitleyen, bu oksidasyon sırasında oksijeni süperoksit iyonuna (OD dönüştüren NADPH oksidazın hızla aktivasyonuna bağlıdır.

• Superoksit daha sonra spontan dismutasyonla hidrojen perokside dönüşür (O2+ 2H+ - H202)

• Üretilen H202 miktarı, bakterilerin büyük bölümünün öldürülmesi için genellikle yetersiz kalır (süperoksit ve radikal oluşumu ise bu bakımdan yeterli olabilir). Ancak nötrofillerde bulunan ve azurofil granüler olarak adlandırılan lizozomlar, miyeloperoksidaz enzimini (MPO) içerir. Klor iyonu (cı-) gibi bir halid varlığında MPO, hidrojen peroksidi hipoklor radikaline (HOCI') dönüştürür. HOCI', güçlü bir oksidan ve antimikrobiktir (NaOCl, çamaşır suyundaki aktif maddedir) ve bakterileri, halojenizasyonla ya da protein ve lipid peroksidasyonuyla öldürür.

Neyse ki fagosit oksidaz yalnızca, sitozolündeki alt birimin fagolizozom membranına translokasyonundan sonra aktiftir. Reaktif son ürünler bu nedenle, öncelikle veziküller içinde oluşur ve fagosit, kendi kendine zarar vermez. H202 sonunda, katalaz etkisiyle suya ve oksijene ayrışır ve diğer reaktif oksijen türevleri de parçalanır. Özellikle nitrik oksit (NO) olmak üzere reaktif azot türevleri de, reaktif oksijen türlerinde anlatılan şekilde etki eder.

Daha sonra ölü mikroorganizmalar, lizozomlardaki asit hidrolazlar tarafından parçalanır. Elastaz, bakterilerin öldürülmesinde rol oynayan, belki de en önemli lizozom enzimidir. Radikal oksijen türevlerinden ve enzimlerden başka,lökosit granüllerindeki çok sayıda diğer madde de enfeksiyöz patojenleri öldürebilir. Geçirgenliği artıran bakterisid protein (fosfolipaz aktivasyonuna ve membran fosfolipidlerinin parçalanmasına neden olur), lizozim (bakteri kılıfındaki oligosakaridleri parçalar), majör bazik protein (eozinofillerde bulunan ve parazitler üzerinde toksik etkisi olan, önemli bir granül bileşenleri) ve defensin adı verilen (mikropları membranlarında delikler açarak öldüren) peptidler; bu gibi maddelerdendir.

Mikrobisid Maddelerin Salgılanması: Lökositlerin kendi kendilerine zarar vermelerini önlemek için fagositlerdeki mikrop öldüren (mikrobisid) mekanizmalar büyük ölçüde, fagolizozomların içinde tutulur. Lökositler ayrıca, hücre dışındaki mikropları ve ölü dokuları imha edip sindiren elastaz enzimi gibi granüler bileşenleri, bunların yanı sıra antimikrobik peptidleri aktif olarak salgılar. Lizozom granüllerinin içeriği lökositler tarafından hücre dışı ortama, çeşitli mekanizmalarla salgılanmaktadır:

• Fagosit vakuolü, fagolizozomun tamamen kapanmasından önce geçici olarak dışarıya açık durumda kalabilir (beslenme sırasında regürjitasyon).

• Eğer hücreler; hareket ettirilmesi olanaksız yüzeyler (örneğin glomerül bazal membranı) üzerinde depolanmış immun kompleksleri gibi kolayca içlerine alamayacakları materyallerle karşılaşırlarsa, bu maddeleri fagosite etme girişimi (gerçekleşmemiş fagositoz), güçlü lökosit aktivasyonunu tetikler ve lizozom enzimleri çevredeki doku ya da lümen yönünde salınır

Hücre Dışı (Ekstrasellüler) Nötrofil Tuzaklan: Bu "tuzaklar" nötrofiller tarafında hücre dışında; öncelikle bakteriler ve mantarlar olmak üzere enfeksiyöz patojenlere ve kemokinler, sitokinler, kompleman proteinleri, reaktif oksijen türevleri gibi inflamatuar medyatörlere yanıt olarak oluşturulan, fibriler ağlardır. Söz konusu ağlar, üzerinde antimikrobik peptidler ve enzimler gömülü olan, çekirdek kromatininden bir çerçeve içerir. Nötrofil tuzakları infeksiyonu yerlerinde, yüksek konsantrasyonda antimikrobik maddeler içerir ve mikropları fibrillerde tuzaklayarak yayılmalarını önler. Bu süreçte nötrofillerin çekirdekleri kaybolarak hücrenin ölümüne yol açmıştır. Nötrofil tuzakları ayrıca sepsis sırasında, kandaki nötrofillerde de saptanmıştır. Bu ağlardaki, histonlar ve bunlara eşlik eden DNA içeren çekirdek kromatininin; hastaların kendi DNA'ların nükleoproteinlerine reaksiyon göstermelerine yol açan çekirdek antijenlerinin kaynağı olduğu öne sürülmüştür.

LÖKOSİTLERİN NEDEN OLDUĞU DOKU HASARI

Lökositler, enzimler ve reaktif oksijen türevleri gibi, zararlı olabilecek maddeler salgıladıklarından, çeşitli koşullar altında normal hücrelerde ve dokularda meydana gelen hasarın önemli nedenleridir. Bu koşullar:

• Enfeksiyöz mikroplara karşı gelişen normal savunma reaksiyonunun bir bölümü olarak; olayın dışında kalan dokuların zedelenmesi. Eradikasyonu zor olan tüberküloz ve kimi viral hastalıklar gibi belirli enfeksiyanlarda konak yanıtı patolojik sürece, mikrobun bizzat kendisinden daha fazla katkıda bulunur.

• Hasarlı ve ölü dokuları temizlemek amacıyla normal bir girişim olarak (örneğin miyokard infarktüsünden sonra). İnfarktüsteki inflamasyon uzayabilir ve iskemi sonuçlarını, özellikle reperfüzyon sırasında daha da şiddetlendirebilir.

• İnflamatuar yanıtın, belirli otoimmun hastalıklardaki gibi uygunsuz bir şekilde konak dokularına yönelmesi veya konağın, çevredeki toksik olmayan maddelere, allerjik hastalıklarda, örneğin astımda aşırı reaksiyon vermesi

Bütün bu durumlarda lökositlerin normal dokulara zarar verme mekanizmaları mikropların ve ölü dokuların temizlenmesinde kullanılan mekanizmaların aynısıdır. Bunun nedeni, lökositlerin bir defa aktive olduktan sonra etki mekanizmalarının, zararlı etkenlerle konak arasında ayrım yapmamasıdır. Aslında denetimsiz kalan veya uygunsuz bir şekilde konak dokularına yönlendirilen lökositlerin bizzat kendileri, başlıca zararlı etken konumuna geçer. İnsanlardaki birçok akut ve kronik hastalıkların arka planında, lökositlerin neden olduğu doku zedelenmesi vardır.

Özellikle makrofajlar olmak üzere aktive lökositler de, inflamasyonu daha fazla uyarır; aktive lökositler, ileride ele alacağımız önemli sistemik etkilere neden olan, çok sayıda sitokin salgılayabilmektedir.

AKUT İNFLAMASYONUN SONUÇLARI

Akut inflamasyonun sonuçları; zedelenmenin tabiatı ve yoğunluğu, inflamasyonun gerçekleştiği yer ve doku, ayrıca konağın yanıt verme yeteneği gibi faktörlerden etkilense de genellikle üç sonuçtan biriyle sona ermektedir

• İyileşme, Rejenerasyon ve Onarım

Zedelenme sınırlı ya da kısa süreliyse, doku hasarı hiç gelişmemiş ya da en düşük düzeyde gerçekleşmişse ve zedelenen doku, rejenerasyon yeteneğine sahipse inflamasyon genellikle, yapısal ve fonksiyonel normalleşmeyle sonuçlanır. İyileşme süreci başlamadan önce, akut inflamatuar yanıtın sona ermiş olması gerekir. Bunun için; çeşitli kimyasal medyatörler nötralize edilmiş, bozulmuş veya enzimlerle parçalanmış; damar geçirgenliği normalleşmiş ve lökosit göçü sona ermiş olmalı ve ardından da damar dışına çıkmış nötrofiller apoptozla ölmüş olmalıdır. Dahası lökositler, inflamasyonu inhibe ederek reaksiyonu sınırlayan medyatörler üretmeye başlar. Nekrotik debrisin, ödem sıvısının ve inflamatuar hücrelerin fagositlerle ve lenf drenajıyla boşalması, savaş alanındaki kalıntıları temizler. Bunu izleyen onarım süreci, lökositlerin salgıladığı sitokinlerle başlar. Bu süreçte yeni damarlar oluşup, hasarlı dokuya uzanarak besleyici maddeler sağlar. Büyüme faktörleri, fibroblastların çoğalmasını, defektleri doldurmak üzere kollajen üretmesini uyarır ve hasardan kalmış doku hücreleri, yapısal bütünlüğün yeniden elde edilmesi için çoğalır.

Kronik inflamasyon; etken olan ajan uzaklaştırılmazsa akut inflamasyonu izler ya da hasarın başlangıcından beri vardır (ör. viral enfeksiyonlar ya da konağın kendi antijenlerine karşı gelişen bağışıklık reaksiyonları). Kronik inflamasyonu, başlangıçta mevcut olan ve devam eden doku hasarının derecesine, ayrıca etkilenen dokuların yeniden büyüme kapasitesine göre normal yapının ve fonksiyonun geri dönüşü izleyebilir ya da kronik inflamasyon nedbeleşmeye yol açabilir. Nedbeleşme önemli ölçüde doku hasarından sonra ya da rejenerasyon yeteneği olmayan dokulardaki inflamasyonda görülen bir onarım tipidir. Bu onarımda zedelenmiş dokudaki defekt, bağ dokusuyla doldurulur. Hasarı onarma girişiminin ya da kronik inflamasyonun sonucunda aşırı miktarda bağ dokusu depolanan organlarda, fonksiyonu önemli ölçüde zora sokan bir süreç olarak fibrozis gelişebilir.

KRONİK İNFLAMASYON

Kronik inflamasyon; inflamasyonun, doku zedelenmesinin ve çoğu zaman fibrozis gelişerek iyileşmenin eş zamanlı olarak, aralıksız devam ettiği, uzun süre (haftalarca, aylarca) devam eden inflamasyondur. Vasküler değişikliklerle, ödemle ve öncelikle nötrofil infiltrasyonuyla karakterize olan akut inflamasyonun aksine kronik inflamasyonda, farklı bir dizi reaksiyon görülür:

• Mononükleer hücre (makrofaj, lenfosit ve plazma hücre- lerini içeren) infiltrasyonu

• Büyük ölçüde inflamatuar hücrelerin ürünleri tarafın- dan gerçekleştirilen doku yıkımı

• Yeni damar proliferasyonunun (angiogenesis) ve fibrozisin rol oynadığı onarım

Akut inflamasyon, akut inflamatuar yanıta yol açan hasar etkeninin varlığını devam ettirmesi ya da normal iyileşme sürecinin gereken şekilde gerçekleşmemesi nedeniyle iyileşememesi durumunda kronik inflamasyon yönünde ilerleyebilir. Örneğin duodenumdaki peptik bir ülser başlangıçta akut inflamasyon şeklindedir ve bunu, iyileşme sürecinin aşamaları izler. Ancak duodenumdaki epitel hücrelerinin tekrar tekrar zedelenmesi bu süreci kesintiye uğrattığında ülser, hem akut, hem kronik inflamasyonla karakterizedir. Bunun yerine; bağışıklık reaksiyonları, kimi viral enfeksiyonlar gibi bazı hasar çeşitlerindeki inflamasyon, daha başlangıçtan itibaren kronik bir yanıttır.

Kronik inflamasyon, aşağıdaki durumlarda gelişebilmektedir:

Eradikasyonu zor olan mikropların yol açtığı, inatçı enfeksiyonlar. Mycobacterium tuberculosis, Treponema pallidum (sifiliz etkeni), belirli virüsler ve mantarlar, inatçı enfeksiyonlara neden olma eğilimi taşır ve gecikmiş aşırı duyarlılık adıyla bilinen, T-lenfositlerin aracılık ettiği bir bağışıklık yanıtının nedenidir.

Bağışıklık sisteminin aracılık ettiği inflamatuar hastalıklar (aşırı duyarlılık hastalıkları) Bağışıklık sisteminin aşırı ve uygunsuz aktivasyonun neden olduğu hastalıkların, önemli bir sağlık sorunu olduğu, gittikçe daha çok anlaşılmaktadır. Bağışıklık reaksiyonlarının belirli koşullar altında, bireyin bizzat kendi dokularına karşı gelişmesi, otoimmun hastalıklara yol açar. Bu gibi hastalıklarda oluşan otoantijenler, sürekli yenilenerek doku hasarıyla ve inatçı inflamasyonla sonuçlanan bir bağışıklık reaksiyonuna neden olur. Otoimmünite adıyla bilinen bu mekanizma romatoid artrit, inflamatuar bağırsak hastalığı ve psöriasis gibi çeşitli, sık karşılaşılan, yıpratıcı, kronik inflamatuar hastalıklarda önemli bir rol oynar. Çevremizde sık rastlanan maddelere karşı gelişen bağışıklık yanıtları, bronşiyal astım gibi alerjik hastalıkların nedenidir. Bağışıklık sistemi aracılığıyla gelişen hastalıklarda inflamasyonun durmaksızın tekrarlaması sonucu, morfolojik olarak hem akut, hem kronik inflamasyon birbirleriyle karışmıştır. Otoimmün hastalıklara yol açan antijenin uzaklaştırılması, neredeyse mümkün olmadığından bunlar, kronikleşme ve kolay kolay tedavi edilememe eğilimi taşır. Toksik etki gösterebilecek maddelere uzun süre maruz kalınması. İnhalasyon yoluyla vücuda girerek akciğerlerde kronik bir inflamatuar yanıta (silikoz) neden olabilen silika partikülleri ve ateroskleroz gelişmesinde katkısı olan, kolesterol gibi endojen maddeler, bu mekanizmayla gelişen kronik inflamasyona örnektir.

Kronik inflamasyonun hafif şekilleri, geleneksel olarak inflamatuar hastalık sayılmayan bazı hastalıkların patogenezinde önemli olabilir. Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar, ayrıca ateroskleroz, tip 2 diyabetin eşlik ettiği metabolik sendrom ve inflamatuar reaksiyonların tümör gelişmesini teşvik ettiği bazı kanser çeşitleri, bu gibi hastalıklardandır.

İNFLAMATUAR HÜCRELER VE MEDİYATÖRLER

Kronik inflamasyonun özelliği olarak beraberce karşımıza çıkan; uzun süre devam eden ve tekrarlayan inflamasyon, doku yıkımı ve fibrozis gelişmesinde, çeşitli hücre popülasyonları ve salgıladıkları medyatörler arasında karmaşık etkileşimler vardır. Kronik inflamatuar reaksiyonların patogenezini anlayabilmek için bu hücrelerin ve biyolojik yanıtlarıyla fonksiyonlarının iyi bilinmesi gerekir.

Makrofajlar

Kronik inflamasyondaki histolojik tabloya hakim hücreler olan makrofajlar, dolaşımdaki monositlerden, bu hücrelerin dokulara göç etmesinden sonra şekillenen doku hücreleridir. Makrofajlar normalde, bağ dokularının çok büyük bir bölümünde yaygın olarak dağılmışlardır. Makrofajlar ayrıca karaciğerde (Kupffer hücreleri), dalakta ve lenf bezlerinde (sinüs histiyositleri), merkezi sinir sisteminde (mikroglia hücreleri) ve akciğerlerde de (alveoler makrofajlar) vardır. Bu hücreler hep birlikte, eski adı retiküloendoteliyal sistem olan, günümüzde ise mononükleer fagosit sistemi adıyla bilinen sistemi oluşturur. Dokularda tüm makrofajlar; partikülleri, mikropları, yaşlanmış hücreleri süzen filtreler olarak etkilidir; ayrıca hücresel ve hümoral bağışıklık yanıtlarında mikropları ortadan kaldıran efektör hücre olarak fonksiyon görür.

Monositler, kemik iliğindeki ön hücrelerden meydana gelir ve dolaşımda yalnızca bir gün kadar kalır. Daha önce de anlatıldığı gibi, akut inflamasyonun başlangıcını izleyen 24-48 saat içerisinde adezyon moleküllerinin ve kemokinlerin etkisi altında zedelenme yerine göç eder. Monositler damar dışındaki dokulara çıktığında, kendilerinden bir bakıma daha büyük ve ömürleri daha uzun, ayrıca fagositoz kapasiteleri daha güçlü hücreler olan makrofajlara dönüşür.

Doku makrofajları, çok çeşitli fonksiyonları yerine getirmek üzere farklı uyaranlar tarafından aktive edilir. Makrofajların aktivasyonu, klasik ve alternatif olmak üzere iki yoldan gerçekleşir:

• Klasik makrofaj aktivasyonu; endotoksin gibi mikrop ürünleri, T hücresinden kaynaklanan ve en önemlileri sitokin IFN-y olan sinyaller ve aralarında kristallerin, partikül şeklindeki maddelerin de bulunduğu yabancı maddeler tarafından gerçekleştirilir. Bu yoldan aktive olan makrofajlar, içlerine aldıkları mikroorganizmaları öldürme yeteneğini güçlendiren lizozom enzimleri, nitrik oksit ve serbest oksijen radikalleri üretir. Bu makrofajlar, fagosite ettikleri mikroplar karşısındaki konak savunmasında ve birçok kronik inflamatuar reaksiyonda önemlidir.

• Alternatif makrofaj aktivasyonu, T lenfositler, ayrıca mast hücreleriyle eozinofiller dahil, diğer hücrelerde üretilen, IFN-y dışındaki IL-4 ve IL3 gibi diğer sitokinler tarafından gerçekleştirilir. Bu şekilde aktive olan makrofajlar aktif mikrobisid özelliğe sahip değildir ve öncelikle, doku onarımında rol oynarlar; anjiyogenezi teşvik eden, fibroblastları aktive eden ve kollajen sentezini uyaran büyüme faktörleri salgılar. Bu yoldan gerçekleşen makrofaj aktivasyonu, zedelenmeye yol açan neredeyse tüm uyaranlara yanıt kimliğini taşıyabilirse de makrofajlar başlangıçta, fagositoz fonksiyonunu yerine getirmek üzere klasik yoldan aktive olur ve bunu, doku onarımını başlatan alternatif yoldan aktivasyon izler. Ancak böyle bir sıra, inflamatuar reaksiyonların büyük bölümünde belgelenmiş değildir.

Makrofajlar, konak savunmasında ve inflamatuar yanıtta önem taşıyan, çeşitli klinik rollere sahiptir.

• Makrofajlar, fagositoz gerçekleştiren diğer hücre tipi olan nötrofiller gibi mikropları ve ölü dokuları hücre içerisine alır ve yok eder. T lenfositlerinden gelen sinyallere yanıt vermeleri nedeniyle bu hücreler, hücresel adaptif bağışıklık yanıtlarındaki en önemli fagositlerdir.

• Makrofajlar, doku onarım sürecini başlatır, nedbe oluşumunda ve fibrozisde rol oynar.

• Makrofajlar; sitokinler (TNF, IL-1, kemokinler ve diğerleri) ve eikozanoidler gibi inflamasyon medyatörlerini salgılar ve bu nedenle, tüm inflamatuar reaksiyonların başlatılmasında ve yayılmasında merkezi rol oynar.

• Makrofajlar, antijenleri T hücrelerine sunar ve bu hücrelerden gelen sinyalleri yanıtlar, böylece, hücresel bağışıklık yanıtlarında temel nitelik taşıyan bir feedback devresi oluşturur. Aynı iki yönlü etkileşimler, kronik inflamatuar hastalıkların gelişmesinde de merkezi role sahiptir

İnflamatuar reaksiyonu başlatan uyaranın ortadan kalkmasını ve reaksiyonun sona ermesini takiben makrofajlar, sonunda ölür veya lenf dolaşımıyla inflamasyon yerinden uzaklaştırılır. Ancak inflamasyonun kronik olduğu yerlerde makrofajlar, kandan gelmeye ve lokal olarak üretilmeye devam ettiklerinden, birikmeye de devam eder. IFN-y, makrofajların birleşerek çok çekirdekli, dev hücreler oluşturmalarına da neden olabilir.

Lenfositler

Lenfositler, herhangi bir spesifik uyaran (örneğin enfeksiyonlar), ayrıca bağışıklık sisteminin aracı rolünü üstlenmediği (örneğin iskemik nekroza veya travmaya bağlı) inflamasyon varlığında mobilize olur ve otoimmun birçok hastalıkla diğer kronik hastalardaki inflamasyonun baş denetleyicisidir. T ve B lenfositlerinin aktivasyonu, enfeksiyonlardaki ve immünolojik hastalıklardaki adaptif bağışıklık yanıtının bir bölümüdür. Her iki lenfosit sınıfı da inflamasyon yerlerine, diğer lökositlerin bu yerlerde toplanmasına yol açan adezyon molekülü çiftlerinden ve kemokinlerden bazılarını kullanarak göç eder. Dokulardaki B lenfositleri, antikor salgılayan plazma hücreleri yönünde gelişebilir; CD4+ T lenfositleri, sitokinler salgılayan aktif hücrelerdir.

CD4+ T lenfositleri, sitokin salgılıyor olmalan nedeniyle inflamasyonu teşvik edebilir ve inflamatuar reaksiyonun tabiatını etkileyebilir. CD4+ yardımcı T hücrelerinin (TH) farklı sitokin grupları salgılayan ve farklı tiplerde inflamasyona yol açan üç alt grubu vardır:

• TH1 hücreleri, makrofajları klasik yoldan aktive eden sitokin IFN-y üretir.

• TH2 hücreleri, eozinofilleri inflamasyon yerine toplayıp aktive eden IL-4, IL-5 ve IL-13 üretir, makrofaj aktivasyonundaki alternatif yoldan sorumludur.

• TH17 hücreleri, nötrofillerin ve monositlerin reaksiyon yerinde toplanmasından sorumlu olan kemokinleri üretir.

Hem TH1, hem TH17 hücreleri, çok sayıda bakteri ve virüs karşısındaki konak savunmasında, ayrıca otoimmun hastalıklarda rol oynar. TH2 hücreleri, helmint parazitlerine karşı savunmada ve allerjik inflamasyonda önemlidir.

Lenfositler ve makrofajlar aralarında, iki yönlü olarak etkileşime girer ve bu etkileşimler, kronik inflamasyonun yayılmasında önemli role sahiptir. Makrofajlar T hücrelerine antijen sunar, kostimülatör adı verilen membran moleküllerinin ekspresyonunu sağlar ve T hücresi yanıtlarını uyaran sitokinler (IL-12 ve diğerleri) üretir. Aktif duruma geçen T lenfositleri ise, daha önce anlatılan ve makrofajları inflamasyon yerine toplayıp aktive ederek daha fazla miktarda antijen sunulmasını ve sitokin salgılanmasını teşvik eder. Sonuç, kronik inflamasyonu besleyen ve uzun süreli olmasını sağlayan bir hücresel reaksiyonlar döngüsüdür.

Kimi güçlü ve uzun süren inflamasyonlarda lenfositlerin, antijen sunan hücrelerin ve plazma hücrelerinin birikmesi, lenfoid organlardaki morfolojik özelliklerin şekillenmesine neden olur ve lenf nodları gibi, iyi oluşmuş germinal merkezler bile içerebilir. Bu lenfoid organogenez paterni çoğıı zaman, uzun süredir romatoid artriti olan hastaların sinoviyumunda ve otoimmun tiroidit hastalarının tiroidlerinde görülür.

Diğer Hücreler

Eozinofiller karakteristik olarak parazit enfeksiyonların çevresindeki inflamasyon yerlerinde ve tipik olarak alerjinin eşlik ettiği IgE aracılığıyla meydana gelen, immunolojik reaksiyonların bir parçası olarak bulunur. Bunların inflamasyon yerinde toplanması, nötrofillerin kullandıklarına benzeyen adezyon molekülleri ve epitel hücrelerinden ve lökositlerden salgılanan, eotaksin gibi spesifik kemokinler sayesindedir. Eozinofil granülleri ileri derecede elektrik yüklü, parazitler için toksik olan, ama epitel hücresi nekrozuna da yol açabilen katyonik bir protein (majör bazik protein) içerir.

Mast hücreleri, vücudun her tarafındaki bağ dokularında yaygın dağılıma sahip, nöbetçi hücrelerdir ve hem akut, hem kronik inflamatuar yanıtlara katılabilir. Mast hücreleri, allerjik reaksiyonlara yatkın olan atopik bireylerde, çevredeki belirli antijenlere karşı oluşan IgE antikoruyla kaplanarak "silahlandırılmıştır". IgE kaplı mast hücreleri daha sonra söz konusu antijenlerle karşılaşırsa, akut inflamasyondaki erken dönem vasküler değişikliklere neden olan araşidonik asit metabolitleri ve histamin salgılar. IgE kaplı mast hücreleri, anafilaktik şok dahil alerjik reaksiyonların merkezindeki oyunculardır. Mast hücreleri ayrıca TNF ve kemokinler gibi sitokinleri salgılar ve kimi enfeksiyonlara karşı verilen savaşta faydalı bir rol oynayabilir

Önemli bir son nokta: Nötrofil varlığı akut infiamasyon bulgusu olmasına rağmen birçok kronik inflamasyon çeşidi, makrofajlarca salınan medyatörler veya mikropların ya da nekrotik hücrelerin ortamda devamlı olması nedeniyle bol nötrofilik infiltrat içerebilir. Bu gibi inflamatuar lezyonlar bazen "kronik inflamasyon üzerinde akut inflamasyon" olarak adlandırılır.

DOKU ONARIMI

Toksik etkenlerin ve inflamasyonun neden olduğu hasarı onarma yeteneği, bir organizmanın yaşamını devam ettirebilmesi açısından ileri derecede önemlidir. Mikroplara ve zedelenmiş dokulara karşı verilen inflamatuar yanıt yalnızca bu tehlikeleri ortadan kaldırmakla kalmaz, aynı zamanda onarım sürecini de başlatır. Kimi zaman "iyileşme" olarak da adlandırılan onarım; doku yapısının ve fonksiyonunun, zedelenme sonrası yenilenmesi anlamına gelir. Onarım iki tip reaksiyonla gerçekleşir; hasarlı dokunun rejenerasyonu ve bağ dokusunun depolanmasıyla nedbe oluşması .

•**Rejenerasyon:** Bazı dokular, hasarlı hücrelerinin yerine yenilerini koyarak temelde tekrar normal duruma dönme yeteneğine sahiptir: bu sürece rejenerasyon adı verılir. Rejenerasyon, hasar sonrası geriye kalan (hasarsız) ve bölünme kapasitesi bozulmamış hücrelerin proliferasyonuyla ve dokunun, kök hücreler kullanılarak yenilenmesiyle gerçekleşir. Hızla bölünen deri ve bağırsak epitelinin ve başta karaciğer olmak üzere bazı parenkimal organların hasara verdiği tipik yanıttır.

• **Nedbe (skar) oluşumu**: Zedelenmiş dokularda rejenerasyon yeteneği yoksa veya dokuyu destekleyen oluşumlar da ağır hasar görmüşse onarım, bağ dokusunun (fibröz dokunun), nedbe oluşumu olarak bilinen proliferasyonuyla gerçekleştirilir. Bu onarımda meydana gelen fibröz bağ dokusu gerçi, parankim hücresinin kaybolan fonksiyonunu onun gibi yerine getiremeyebilirse de, zedelenmiş dokunun genellikle fonksiyon görebilmek için ihtiyaç duyduğu yeterli yapısal stabiliteyi sağlar. Fibrozis deyimi en çok; kronik inflamasyonun sonucu olarak akciğerlerde, böbreklerde, karaciğerde ve dıger organlarda ya da yaygın iskemik nekroz (infarktüs) sonrası kalp kasında aşırı kollajen depolanmasını tanımlamak için kullanılır. Eğer fibrozis, inflamatuar eksudanın bulunduğu bir doku boşluğundaysa, organızasyon olarak (örneğin akciğerlerde pnömoni sonrası meydana gelen organizasyon) adlandırılmaktadır.

Birçok zedelenme tipinin ardından hem rejenerasyon hem nedbe oluşumu, sonuçtaki doku onarımına değişebilen derecelerde katkıda bulunur. Her iki süreçte de çeşitli hücrelerin proliferasyonu ve hücrelerle ESM arasında yakın etkileşimler söz konusudur. Burada hücre proliferasyonunun ilkeleri, büyüme faktörlerinin farklı hücre tiplerinin onarım sırasındaki rolleri ve kök hücrelerin doku homeostazındaki rolleri anlatılmaktadır. Bunu, ESM'in bazı özelliklerinin ve onarımdaki rolünün özetlenmesi izlemektedir. Bu anlatılanlar, rejenerasyonun ve nedbeleşme yoluyla iyileşmenin, üzerinde durulması gereken, önemli özelliklerine değinmekte ve sonuçta; deri yaralarının iyileşmesi ve parenkimal organlardaki fibrozis (nedbeleşme), onarım sürecine örnek olarak anlatılmaktadır.

SKAR OLUŞUMU

Daha önce de anlatıldığı gibi, doku zedelenmesi şiddetli veya kronikse ve parenkim ve epitel hücreleriyle bağ dokusunda hasar ile sonuçlanmışsa, ya da bölünme yeteneği olmayan hücreler zedelenmişe, onarım sadece rejenerasyonla sağlanamayabilir. Bu koşullar altında onarım, rejenere olmayan hücrelerin yerini bağ dokusunun alması sonucu nedbeleşmeyle ya da bazı hücrelerin rejeneresyonu ve nedbeleşmenin birlikteliğiyle gerçekleşir.

SKAR OLUŞUMUNUN AŞAMALARI

Bağ dokusunun depolanması yoluyla onarım; inflamatuar yanıttan sonra, birbirini izleyen bir dizi aşamada gerçekleşir:

• Yeni damar oluşumu (angiogenesis)

• Fibroblastların hasar gören yere göç ederek çoğalmasıyla ve bağ dokusunun depolanmasıyla birlikte aralarında lökositlerin dağınık olarak göze çarptığı çok sayıda damar; pembe renkli, granüler görünüme salıiptir ve bu nedenle granülasyon dokusu olarak adlandırılır.

• Bağ dokusu, stabil fibröz nedbe oluşturmak üzere olgunlaşır ve tekrar organize olur (yeniden biçimlenme)

Onarım, zedelenmeyi izleyen 24 saat içerisinde, fibroblastların zedelenme yerine göç etmesi, fibroblast ve endotel hücrelerinin proliferasyonunun indüksiyonu ile başlar. Üçüncü-beşinci güne gelindiğinde, iyileşme sürecinin karakteristiği olan, özelleşmiş granülasyon dokusu belirir. Granülasyon deyiminin kökeni, deri yarasının kabuğunun altını andıran, makroskopik görünümdür. Bu dokunun histolojik görünümü ise fibroblastların proliferasyonuyla ve gevşek bir ESM içerisinde ve çoğu zaman, öncelikle makrofajlarla olmak üzere inflamatuar hücrelerle karışmış, ince duvarlı, yeni kapiller damarlarla (anjiyogenez) karakterizedir. Granülasyon dokusunda gittikçe dalıa fazla sayıda fibroblast birikir ve bu hücrelerden salgılanan kollajen, sonunda nedbe oluşumuna yol açar. Nedbe dokuları, zaman içerisinde yeniden biçimlenir

Anjiyogenez, öncelikle venüllerden olmak üzere mevcut damarlardan yeni kan damarlannın oluşma sürecidir. Hasar yerlerindeki iyileşme sürecinde, iskerni yerlerinde kollateral dolaşım gelişmesinde ve tümörlerin, orijinal kanlanmalarıyla kıyaslandığında büyüyebileceklerinden çok daha fazla büyümelerinde son derece önemlidir. Anjiyogenezin arka planındaki mekanizmaların anlaşılması, sürecin hızlandırılması (ör. koroner aterosklerozunda kalbe gelen kan miktarının artırılması) ya da inhibisyonu (tümör büyümesinin engellenmesi veya diyabetik retinopatide olduğu gibi patolojik damar gelişmesinin bloke edilmesi) amacıyla çok sayıda çalışma yapılmıştır.

Mevcut damarlardan yeni damarların filizlendiği bir süreç olan anjiyogenez sırasında, aşağıdaki aşamalardan geçilir:

• Nitrik oksite yanıt olarak vazodilatasyon ve VEGF etkisiyle damar geçirgenliğinin artması

• Perisitlerin damarın, lümene uzak (abluminal) yüzeyinden ayrılması

• Endotel hücrelerinin, doku hasarı bölgesine göç etmesi

Göç eden endotel hücrelerinin ön sırasının hemen arkasındaki endotel hücrelerinin proliferasyonu,

• Kılcal tüplerin oluşumu yönünde yeniden biçimlenme

• Periendotelyal hücrelerin (küçük kapiller damarlar için perisitlerin, daha büyük damarlar için düz kas hücrelerinin) matür damar oluşturmak üzere toplanması

• Endotel hücrelerinin proliferasyon ve göçünün baskılanması ve bazal membran depolanması

Anjiyogenez sürecinde çeşitli büyüme faktörleri, hücre hücre etkileşimleri, ESM proteinleriyle etkileşim ve doku enzimleri rol alır.

Anjiyogenezde Rol Oynayan Büyüme Faktörleri

En önemlileri VEGF (vasküler endotelyal büyüme faktörü) ve FGF-2 (bazik fibroblast büyüme faktörü) olmak üzere çeşitli büyüme faktörleri, anjiyogeneze katkıda bulunur.

• Büyümefaktörlerinin VEGF ailesinde VEGF-A, -B, -C, -D ve -E; ve plasental büyüme faktörü (PIGF) vardır. Genellikle VEGF adıyla anılan VEGF-A, hasar sonrası ve tümörlerdeki anjiyogenezi başlatan başlıca etkendir; VEGF-B ve PlGF, embriyodaki damar gelişmesinde rol oynar; VEGF-C ve -D, hem lenfanjiyogenezi, hem de anjiyogenezi uyarır. Erişkin dokularının çok büyük bir bölümünde, VEGF üyelerinin ekspresyonu vardır: Bu ekspresyonlar en fazla, "pencereli" epitele komşu epitel hücrelerinde (örneğin böbrekteki podositlerde, retinadaki pigment epitelinde) karşılaşılır. Bu büyüme faktörleri, bir tirozin kinaz reseptör ailesine bağlanır (VEGFR-1, -2 ve -3). Anjiyogenez için bu reseptörlerin en önemlisi, özellikle endotel hücreleri olmak üzere hedef hücrelerde yer alan VEGFR-2'dir. VEGF indüksiyonuna yol açan birçok faktörden en önemlisi hipoksi; diğerleri PDGF (trombosit kökenli büyüme faktörü), TGF-a ve TGF-Beta(Transforming Growth faktör alfa ve beta) dır.

VEGF endotel hücrelerinin hem göç etmesini, hem proliferasyonunu uyararak anjiyogenezdeki kapiller filizlenmeyi başlatır. NO üretimini uyarıp vazodilatasyonu destekler ve damar lümeni oluşumuna katkıda bulunur. VEGF'ye karşı antikorların yayılma ve büyümeleri için anjiyogeneze ihtiyaç duyan bazı tümörlerin tedavisinde kullanılması onaylanmıştır.

Bu antikorlar ayrıca, 50 yaş üzeri erişkinlerde karşılaşılan görme bozukluğunun önde gelen bir nedeni olan "ıslak" (neovasküler) maküla dejenerasyonunun tedavisinde; ayrıca prematürite retinopatisine eşlik eden anjiyogenez üzerinde yapılan klinik çalışmalarla, diyabetteki maküla ödemine yol açan sızıntılı damarlar (leaky vessels) ile ilgili çalışmalarda kullanılmaktadır.

Büyüme faktörlerinin FGF ailesinin, en iyi karakterize edilenleri FGF-1 (asidik FGF) ve FGF-2 (bazik FGF) olmak üzere, 20'den fazla üyesi vardır. Birçok hücre tipinde üretilen bu büyüme faktörleri, tirozin kinaz aktivitesine sahip bir plazma membran reseptörleri ailesine bağlanır. Serbest kalan FGF, heparan sülfata da bağlanabilir ve ESM'de depo edilebilir. FGF-2 anjiyogeneze en çok, endotel hücrelerinde proliferasyonu uyararak katkı yapar. Ayrıca makrofajların ve fibroblastların hasar alanına göç etmelerini teşvik eder; epitel hücrelerinin, epidermal yaraları örtmek üzere göç etmesini uyarır.

• Anjiyopoietin Ang1 ve Ang2, anjiyogenezde ve yeni damarların yapısal olgunlaşmasında rol oynayan büyüme faktörleridir. Yeni oluşan damarların, perisitlerin ve düz kas hücrelerinin toplanması ve bağ dokusu depolanması yoluyla stabilizasyona ihtiyaçları vardır. Ang1, endotel hücrelerinin üzerindeki, Tie2 adlı bir tirozin kinaz reseptörüyle etkileşime girer. Stabilizasyon sürecine, diğer bazı büyüme faktörleri de (PDGF ve TGF-beta)katılır.PDGF düz kas hücrelerini toplar; TGF-beta ise endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve göçünü baskılar, ESM proteinlerinin üretimini arttırır.

Kan damarlarının embriyo gelişmesi sırasında çoğalmasına vaskülogenez adı verilmektedir. Bu süreçte damarlar, angioblast adı verilen endotel prekürsör (öncül) hücrelerinin birleşmesiyle, yeni baştan (de nova) yapılır. Angioblastların kökeni, kendileri de hematopoetik sisteme prekürsör hücre üreten hemangioblastlardır. Ayrıca erişkinlerde, kemik iliğindeki kök hücrelerden üretilerek dolaşıma bırakılan endotel prekürsör hücreleri de vardır. Ancak bunların erişkinlerdeki anjiyogeneze katkıda bulundukları kesin olarak saptanmış değildir.

ESM proteinleri anjiyogenezdeki damarların filizlenmesine katkıda bulunur ve bunu daha çok endotel hücrelerindeki integrinlerle etkileşime girerek ve oluşan damara iskelet oluşturarak yapar. Öncelikle metalloproteinazlar (MMP) olmak üzere ESM enzimleri ESM'i, damar tüpünün yeniden biçimlenerek uzamasını sağlamak amacıyla parçalar. Yeni oluşan damarlar, endotel hücreleri arasındaki bağlantıların tamamlanmaması ve VGEF'nin damar geçirgenliğini artırması nedeniyle, henüz sıvı sızdıran oluşumlardır. Granülasyon dokusunun çoğu zaman niçin ödemli olduğunu kısmen açıklayan bu özellik iyileşen damarlarda, inflamatuar yanıtın yatışmasından sonra uzun süre devam eder. Dahası, tümör içi basıncı artırır ve ıslak maküla dejenerasyonu gibi patolojik süreçlerdeki oküler anjiyogenezde ciddi sorun yaratabilecek ödemin temelini oluşturur.

Fibroblastların Aktivasyonu ve Bağ Dokusunun Depolanması

Bağ dokusunun nedbede depolanması iki aşamada gerçekleşir;

Fibroblastların hasar bölgesine göç ederek proliferasyonu ve bu hücrelerin ürettiği ESM proteinlerinin birikmesi. Fibroblastların hasar bölgesinde toplanarak bağ dokusu proteinlerini sentez etmek üzere aktivasyonu; PDGF, FGF-2 ve TGF-beta dahil birçok büyüme faktörü tarafından denetlenir. Bu faktörlerin başlıca kaynağı, özellikle hasar yerlerinde ve granülasyon dokusunda mevcut makrofajlar olma üzere inflamatuar hücrelerdir. İnflamasyon bölgeleri ayrıca mast hücreleri bakımından da zengindir ve uygun kemotaksi ortamını bulan lenfositler de mevcut olabilir. Bu hücre tiplerinin her biri, fibroblast proliferasyonuna ve aktivasyonuna katkıda bulunan sitokinler ve büyüme faktörleri salgılayabilir.

İyileşme ilerledikçe, çoğalan fibroblastların ve yeni oluşan damarların sayıları azalır, ama fibroblastların gittikte daha fazla sentez yapan bir fenotip kazanması nedeniyle ESM proteini birikimi artar. İyileşmekte olan bir yara yerinin güçlenmesinde, kollajen sentezi özellikle önemlidir.İyileşmekte olan bir yarada fibroblastlar, kollajen sentezine erken (üçüncü-beşinci günde) başlar ve yaranın boyutlarına göre bu sentezi, haftalarca devam ettirir. Ancak net kollajen birikimi, yalnızca sentezinin artmasına değil, daha sonra anlatılacak olan kollajen yıkımının azalmasına da bağlıdır.

Sonunda granülasyon dokusu; büyük ölçüde inaktif durumdaki, iğsi şekilli fibroblastlardan, yoğun kollajenden, elastik doku parçalarından ve diğer ESM bileşenlerinden oluşan nedbeye dönüşür. Nedbe olgunlaştıkça, mevcut damarlar yavaş yavaş kaybolur ve önceleri damar bakımından zengin olan granülasyon dokusu, soluk renkli, büyük ölçüde damarsız bir doku olan nedbe dokusuna değişir.

ESM Depolanmasında ve Nedbe Oluşumunda Rolü Olan Büyüme Faktörleri:

TGF-P, PDGF ve FGF dahil çok sayıda büyüme faktörü, bu süreçte rol alır. FGF aynı zamanda anjiyogenezde de rol oynadığından, daha önce anlatılmıştır. Burada biz, TGF-P ve PDGF'nin başlıca özelliklerini kısaca ele alacağız.

• Transforme edici büyüme faktör-beta (TGF-beta), üyeleri arasında kemik morfogenetik proteinler de bulunan bir homolog polipeptid (TGF-betal, -beta2 ve -beta3) ailesinde yer alır. TGF-beta1 izoformu yaygın dağılımı gösterir ve genellikle TGF-beta olarak bilinir. Aktif faktör hücre yüzeyindeki, serin-treonin kinaz aktivitesine sahip iki reseptöre bağlanarak Smads adlı transkripsiyon faktörlerinin fosforilleşmesini tetikler. TGF-beta, çok sayıda ve çoğu zaman hücre tipine ve dokunun metabolik durumuna bağlı olarak birbirinin karşıtı etkilere sahiptir. TGF-beta, inflamasyonda ve onarımda, başlıca iki fonksiyon üstlenir: o TGF-beta kollajen, fibronektin ve proteolikanların sentezini uyarır; kollajen yıkımını hem proteinaz aktivitesini azaltarak, hem TIMP adıyla bilinen doku inhibitör proteinlerinin aktivitesini artırarak engeller. TGF-beta yalnızca hasar sonrası nedbe oluşumunda değil ayrıca akciğerlerde, karaciğerde ve böbreklerde kronik inflamasyon sonrası fibrozis gelişmesinde de rol oynar.

TGF-P, inflamatuar yanıtları sınırlayıp sonlandıran, anti-inflamatuar bir sitokindir. Bunu, lenfosit proliferasyonunu ve diğer lökositlerin aktivitesini inhibe ederek gerçekleştirir. TGF-beta'sı olmayan farelerde yaygın inflamasyon ve belirgin lenfosit proliferasyonu vardır.

• Trombosit-kökenli büyüme faktörü (PDGF), her birinde ikişer zincir bulunan, birbirleriyle yakından ilişkili, A ve B adı verilen proteinlerin yer aldığı bir protein ailesinin üyesidir. BB'nin prototip olduğu, başlıca beş izoformu vardır; bu izoform çoğu zaman yalnızca PDGF olarak adlandırılır. PDGFler, PDGFRa ve PDGFRP adlı reseptörlere bağlanırlar. PDGF, trombositlerde depolanır ve trombosit aktive olduğunda serbest kalır; aynı zamanda endotel hücreleri, aktive makrofajlar, düz kas hücreleri ve birçok tümör hücresi tarafından da üretilir. PDGF, fibroblastların proliferasyonuna ve göç etmelerine neden olur. Makrofajların göç etmesine de katkıda bulunabilir.

•İnflamasyon medyatörleri olarak değinilen sitokinler, büyüme faktörü olarak da fonksiyon görebilir, ESM depolanmasına ve nedbe oluşumuna katkıda bulunabilir. Örneğin IL-1 ve IL-13, kollajen sentezi için fibroblastları etkileyebilir; ayrıca, fibroblastların proliferasyonunu ve göç etmesini artırabilir.

Bağ Dokusunun Yeniden Biçimlenmesi

Sentezinin ve depolanmasının ardından nedbedeki bağ dokusunun modifikasyonu ve yeniden biçimlenmesi devam eder. Onarım sürecinin sonucu böylece, ESM proteinlerinin sentezi ve yıkılması arasında kurulan dengeyle belirlenir. Kollajen ve diğer ESM bileşenleri, aktiviteleri çinko iyonlarına bağlı olan bir matriks metalloproteinazlar (MMPlar) ailesi tarafından parçalanır. MMP'lar, yine ESM'i parçalayan, ancak metalloenzim olmayan nötrofil elastazdan, katepsin G'den, plazminden ve diğer serin proteazlardan ayırt edilmelidir. Fibriler kollajeni parçalayan interstisyel kollajenazlar (MMP-1, -2 ve -3); amorf kollajeni ve fibronektini parçalayan jelatinazlar (MMP-2 ve -9) ve proteoglikanlar, laminin, fibronektin ve amorf kollajen dahil ESM çeşitli yapı taşlarını parçalayan stromelizinler (MMP-3, -10 ve -11); MMP ailesinin üyeleridir.

MMP'lar, çeşitli hücre tiplerinde (fibroblastlar, makrofajlar, nötrofiller, sinovya hücreleri ve bazı epitel hücreleri) üretilir; bunların sentezleri ve salgılanmaları; büyüme faktörleri, sitokinler ve diğer ajanlar tarafından düzenlenir. MMP'ların aktiviteleri, sıkı bir şekilde denetlenir. MMP'lar önce, yalnızca hasar bölgesinde bulunmaları olası proteazlar (örneğin plazmin) tarafından aktive edilmesi gereken inaktif prekürsörler (zimogen) olarak üretilir.

Bu proteazlar ayrıca, mezenkim hücrelerinin çok büyük bölümünde üretilen, spesifik metalloproteinaz doku inhibitörleri (tissue inhibitors of metalloproteinases- TIMPler) tarafından hızla inhibe edilebilmektedir. Böylece MMP'lar nedbeleşme sırasında, depolanan ESM'i yeniden biçimlendirmek üzere aktive olur ve daha soma bu aktiviteleri, TIMP'ler tarafından sonlandırılır.

PARENKİMAL ORGANLARDA FİBROZİS

Kollajen depolanması, normal yara iyileşmesinin bir parçasıdır. Fibrozis deyimi, bir dokuda aşırı kollajen ve diğer ESM bileşenleri depolandığını anlatır. Daha önce de anlatıldığı gibi nedbe ve fibrozis deyimleri birbirinin yerine kullanılmaktadır, ama fibrozis daha çok, kronik hastalıklardaki kollajen birikimini anlatan bir deyimdir.

Fibrozisdeki temel mekanizmalar, doku onarımı sırasında nedbe oluşumundakilerin aynıdır. Ancak doku onarımı tipik olarak, kısa süreli bir zararlı uyaranı izler ve birbirini izleyen aşamalar sonucunda gerçekleşir. Oysa fibroz; enfeksiyonlar, bağışıklık reaksiyonları ve diğer tip doku hasarları gibi uzun süreli, zararlı uyaranlara verilen bir yanıttır. Akciğer fibrozisi gibi kronik hastalardaki fibrozisi çoğu zaman, organın disfonksiyonundan, hatta ölümünden sorumludur.

GEREÇ ve YÖNTEM

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kartal Koşuyolu Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma hastanesi Kardiyoli Ana Bilim Dalı'nda yürütülen bu çalışmaya, 2016-2018 yılları arasında Kardiyoloji ve Kalp Damar cerrahisi Kliniği'ne tedavi için başvuran ve klinik laboratuvar ekokardıyografik ve angıografik olarak coroner arter hastalığı,kapak hastalığı(mitral yetersizliği,aort yetersizliği),asendan aort anevrızması ve hipertrofik obstruktıf kardıyomıyopati tanısı konulan hastalar dahil edildi. Koroner arter hastaığı nedenıyle CABG yapılan hastalar ile ameliyat öncesi coroner angıografısı normal olan MVR,AVR;myektomi ve Benthall yapılan hastalar karşılaştırıldı.Hasta grubunda yaşları 44 ila 75 arasında değişen**,** 4 kadın, 27 erkek olmak üzere toplam 31 kişi yer alırken, kontrol grubu yaşları 24 ila 68 yaş arasında değişen 3'i kadın, 14'ü erkek, toplam 7 kişiden oluşturuldu. Hasta grubunda angıografik olarak tekli ve çoklu damar hastalığı tanısı kondu. Kontrol grubunda ise ekokardıyografik olarak ıleri mıtral yetersizliği,aort yetersizliği asendan aort anevrızması ve hipertrofik obstruktif kardıyomyopati tanısı kondu. Mitral yetersizlik tanısı alan hastalardan biri mıtral valf prolabsusu diğerleri romatızmal mıtral yetersiziliği nedeniyle opera olurken aort yetersizliği olan hasta degenerative aort yetersizliği nedenıyle operasyona alınıdı.Etik Kurul onayı alınarak gerçekleştirilen çalışmada, tüm hastalar, ön tanı, biyopsi işlemleri, yapılacak cerrahi işlemler, cerrahi işlemler sırasında ve sonrasında oluşabilecek bütün komplikasyonlar ve takip süresi hakkında detaylı olarak bilgilendirilerek, kendilerine hasta izin formları onaylatıldı.

Bu çalışmaya, herhangi bir nedenle sol ventrıkul sıstolık fonksıyonları bozulmuş hastalar dahil edilmedi. Çalışmaya Hem hasta grubunda(CABG lı hastalar) hemde kontrol grubunda amelıta oncesi ve sonrası sol ventrıkul sıstolık fonksıyonları norma(Ekokardıyografik olarak hesaplanmış ef%50-60-görsel) hastalar dahil edıldı.Kontrol grubu özelıkle pre-op coroner angıografisi normal yada hafif plaklı ve angına tariff etmeyen ve daha once troponın pozitifliği olmayan hastalar alındı.Çalışma toplam 38 hasta üzerinde yürütüldü. Operasyonlar öncesinde çalışmacılar tarafından hazırlanan hasta bilgi formları hasta ve hekim tarafından doldurulduru.

Histopatolojik inceleme

Alınan biyopsi örneklerinden hazırlanan formalin fikse parafin bloklardan alınan 4-5 mikronluk kesitler H&E ile boyanarak histopatolojik olarak, Nikon Eclipse E600 marka ışık mikroskobunda incelendi.

H&E kesitlerde yapılan incelemerde özelıkle islemik kalp hastalığı tanısı alan ve bu nedenle tekli yada çoklu CABG yapılan hastaların kesitlerindeki inflmasyonun diger kontrol grubundaki hastalara gore oldukça fazla olduğu dikkati çekmektetdir.

Hastalardaki inflmasyon yoğunlukarı ışık mıkroskobik incelemede büyük büyütme alanına giren inflamatuvar hüzcre sayısı dikkate alınarak yapıldı ve dört skor belirlendi.Bizim çalışmammızda

H&E boyamaları yapıldıktan sonra ışık mikroskobunda değerlendirilen kesitler, enflamasyonun yoğunluğuna göre aşağıdaki gibi sınıflandırıldı

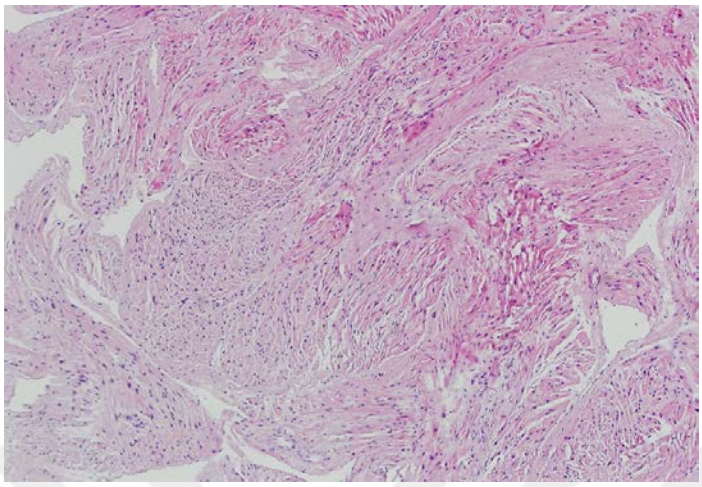
Histopatolojık değerlendirme

O: yok

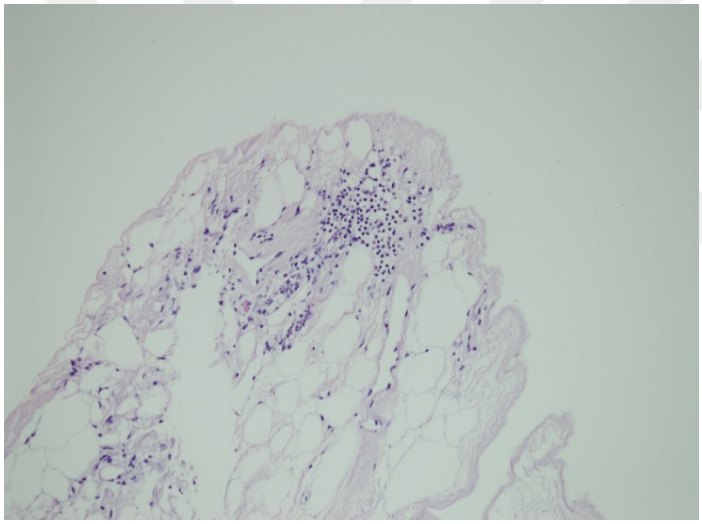
1: Hafif

2: Orta

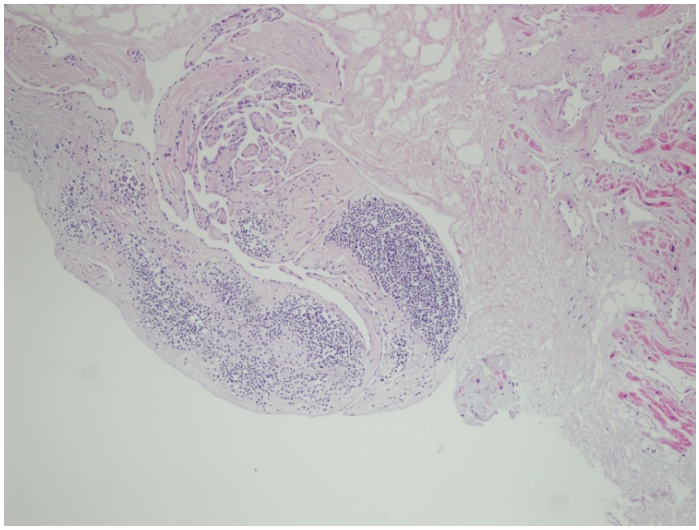
3: Ağır



SKOR:0



SKOR:1



SKOE:3

vaka no	ad-soyad	RA appendix	LAD periventriküler	Cinsiyet
1	TB	0	0	E
2	HÖ	0	1	K
3	KA	0	0	E
4	CD	0	0	E
5	MK	1	0	E
6	İÇ	3	0	E
7	İA	0	0	E
8	MS	0	1	E
9	SÇ	0	0	E
10	EG	0	0	E
11	HG	0	0	E
12	AU	1	0	E
13	AO	0	0	E
14	VG	3	0	E
15	FM	0	0	E
16	GY	3	0	E
17	SC	3	0	E
18	THB	1	0	E
19	HK	0	0	E
20	NB	0	0	E
21	FT	0	0	E
22	MG	0	0	E
23	SE	0	0	K
24	NG	3	1	E
25	ÖM	0	0	E
26	SD	0	0	E
27	MA	3	0	E
28	İK	3	0	K
29	HK	0	0	K
30	MD	0		K
31	GE	0		K
32	HK	0		E
33	RU	0		E
34	TK	0		K
35	HA	0		E
36	MŞ	0		E
37	SV	0		K
38	MY	0		E

Histopatolojik inceleme sonucunda uygun bulunan örnekler, BAC,BCL-‘ve BECLİN antikorları ile immunohistokimyasal olarak boyandı.

İmmun histokimyasal inceleme

• Örnekler, BAX,BCL-‘ve BECLİN antikorları için ABC metodu ile immünohistokimyasal olarak boyandı.

• Adheziv lamlara (Surgipath, X-tra Adhesive Microslides, Illinois, USA) 4µm kalınlığında alınan kesitler etüv içerisinde 560C’de 12 saat bekletildi.

• Kesitler 30 dakika ksilende kurutularak, onbeşer dakika süreyle, sırasıyla %100 (absolut), % 96, % 90 ve % 80’lik etil alkolde bekletilerek dehidratasyon işlemleri gerçekleştirildi.

- Kesitler su ile yıkanarak distile suya alındı.
- Endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek için metanol içinde hazırlanmış % 3’lük H2O2 10 dakika süreyle uygulandı.
- Kesitler PBS (pH:7,60) ile püskürtme yöntemi kullanılarak yıkandı.
- Formalin fiksasyonu ve parafin bloklama nedeniyle dokuda maskelenmiş olan antijenik yapıları açığa çıkarmak amacıyla her iki antikorun da uygulanacağı kesitler antijen retrevial solüsyonu (0,01M sodyum sitrat buffer, pH:6,00) içerisinde ilk on dakika orta, son beş dakika yüksek derecede olmak üzere 15 dakika mikrodalga fırında işlemden geçirildi.

• Takiben kesitler oda ısısında 30 dakika bekletildi ve distile su ve arkasından PBS ile üç kez yıkandı. • Tüm antikorlar için Zymed Histostain Plus Broad Spectrum kiti (Lot 1385070, Zymed laboratories Inc., Carlsbad, CA, USA) kullanıldı.

• Kesitler 5-10 dakika süreyle non-immün bloklama serumunda bekletildi. • Daha sonra iNOS (polyclonal antibody RB -1605-P1; Neo Marker, Fremont, CA, USA), HSP27 (monoclonal antibody clone G3.1, MS-101- R7, Neo Marker, Fremont, CA, USA) ve HSP 60 (monoclonal antibody clone LK1, 101-R7, Neo Marker, Fremont, CA, USA) primer antikorlarıyla +4oC’de 18-20 saat süreyle muamele edildi.

• Oda ısısına erişen kesitler, PBS ile 5 dakika püskürtme yöntemi ile yıkanıp kurulandıktan sonra 20-30 dakika biyotine bağlanmış bağlayıcı (sekonder) antikor uygulandı. • Kesitler yeniden PBS ile yıkanıp kurulandıktan sonra streptavidin ile konjüge alkalen fosfataz uygulanarak 20-30 dakika bekletildi.

- Takiben kesitler PBS ile yıkandı ve kurulandı.
- Renk vererek görüntülemeyi sağlamak amacıyla yaklaşık 10-15 dakika süre ile AEC kromojen çözeltisi ile (Zymed Laboratories, San. Francisco, Calif, USA, Lot: 00-0027) inkübe edildi.
- Kesitler üç kez distile sudan geçirildi.
- Zemin boyaması için Mayer's hematoksilende 30 saniye bekletildi.
- Kesitler önce çeşme suyunda ardından distile suda yıkandı.
- Ardından su bazlı kapatıcı (Large volume vision mount, Lot:UG14124, labvision Fremont, CA, USA) kullanılarak lamla kapatıldı.

İmmunhistokimyasal değerlendirme

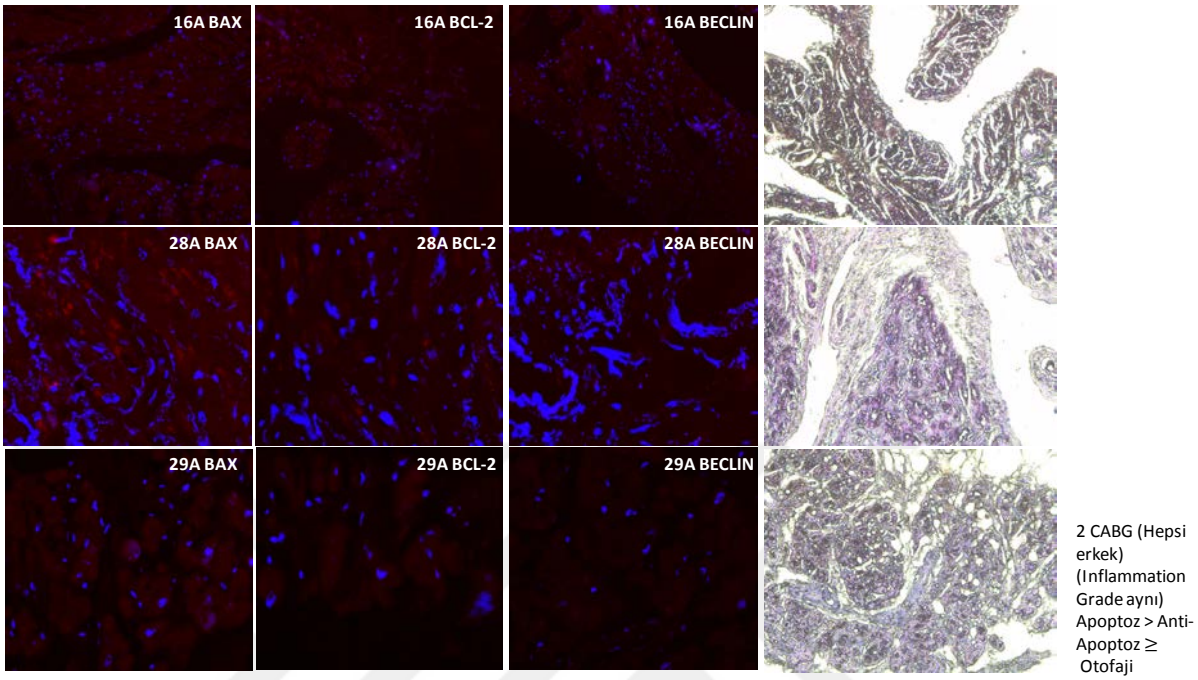
Alınan epikardiyal yağ örneklerindeki miyosit hücrelerindeki stoplazmik ve çekirdek boyanmalar BAX,BCL-2 ve BECLİN ekspresyonu için pozitif olarak kabul edildi. Pozitif olarak kabul edilen her örnek ekspresyon yoğunluğuna göre derecelendirildi. Ayrıca pozitiflik gösteren bağ dokusundaki diğer hücreler kaydedildilmedi.

HASTA GRUBU

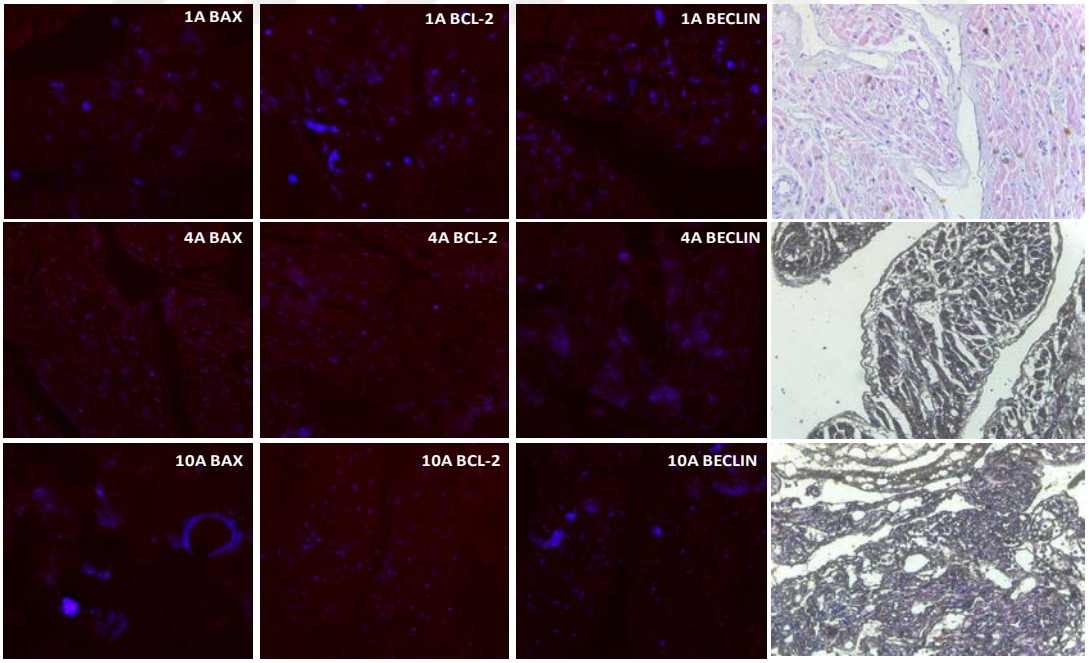
	Expressior	Std Sapma		Expressior	Std Sapma		Expressior	Std Sapma
1A BAX	28,787	6,785	11A BAX	32,662	9,003	21A BAX	23,631	5,452
1A BCL2	34.196	5,84	11A BCL2	28,611	8,473	21 ABCL2	29,875	4,267
1A BECLIN	30,026	8,78	11A BECLIN	37,07	10,612	21A BECLIN	22,345	4,342
2A BAX	28.033	6,819	12A BAX	34,718	6,894	22A BAX	23,761	5,592
2A BCL2	24,262	5,317	12A BCL2	36,136	6,319	22A BCL2	30,067	4,342
2A BECLIN	29	8,025	12A BECLIN	24,289	4,784	22A BECLIN	23,267	4,769
3A BAX	33,25	9,101	13A BAX	32,382	7,526	23A BAX	24,346	6,415
3A BCL2	25	7,841	13A BCL2	30,487	4,658	23A BCL2	33,917	4,353
3A BECLIN	41,687	13,905	13A BECLIN	31,585	9,005	23A BECLIN	25,296	4,741
4A BAX	33	8,613	14A BAX	27,113	7,276	24A BAX	39,462	9,995
4A BCL2	36,899	7,229	14A BCL2	27,833	7,297	24A BCL2	56,898	9,421
4A BECLIN	28	7,563	14A BECLIN	26,976	8,273	24A BECLIN	31,193	8,564
5A BAX	27,816	5,341	15A BAX	25,352	5,591	25A BAX	61,252	18,715
5A BCL2	22	7	15A BCL2	41,466	9,609	25A BCL2	73,388	13,326
5A BECLIN	37,099	9,29	15A BECLIN	25,698	6,042	25A BECLIN	47,255	13,88
6A BAX	21	4,823	17A BAX	43,059	17,01	27A BAX	42,72	12,13
6A BCL2	22,895	6,59	17A BCL2	28,641	9,743	27A BCL2	58,174	14,496
6A BECLIN	28	7,92	17A BECLIN	29,474	6,654	27A BECLIN	41,762	12,86
7A BAX	35,745	9,885	18A BAX	18,314	7,338	28A BAX	37,403	10,939
7A BCL2	37	7,431	18A BCL2	15,471	6,621	28A BCL2	30,212	9,103
7A BECLIN	41,249	13,402	18A BECLIN	11,306	4,977	28A BECLIN	29,498	8,084
8A BAX	24	6,696	19A BAX	23,061	8,274	29A BAX	26,079	10,861
8A BCL2	22,531	6,094	19A BCL2	21,733	4,431	29A BCL2	17,725	8,95
8A BECLIN	23	5,702	19A BECLIN	15,087	4,033	29A BECLIN	18,822	6,105
9A BAX	33,934	5,529	20A BAX	29,546	6,177	30A BAX	11,206	4,033
9A BCL2	22	6,732	20A BCL2	19,132	6,139	30A BCL2	14,614	4,469
9A BECLIN	27,259	8,221	20A BECLIN	17,13	6,445	30A BECLIN	13,68	4,522
10A BAX	26	7,738						
10A BCL2	37,693	6,33						
10A BECLIN	25	6,189						

KONTROL GRUBU

	Expressior	Std Sapma			Expressior	Std Sapma
16A BAX	34,945	9,599		34A BAX	38,095	11,374
16A BCL2	32,942	9,551		34A BCL2	46,135	16,556
16A BECLIN	28,902	9,883		34A BECLIN	32,812	9,026
26 A BAX	33,197	7,556		35A BAX	35,915	8,186
26A BCL2	28,629	7,789		35A BCL2	54,032	14,249
26A BECLIN	29,521	6,189		35A BECLIN	44,192	13,468
31A BAX	13,504	4,69		36A BAX	36,423	8,448
31A BCL2	13,574	4,773		36A BCL2	57,451	11,506
31A BECLIN	13,008	6,278		36A BECLIN	42,602	18,452
32A BAX	24,954	7,894		37A BAX	32,286	7,868
32A BCL2	50,942	16,65		37A BCL2	33,153	8,31
32A BECLIN	41,231	9,87		37A BECLIN	30,909	7,004
33A BAX	27,555	4,171		38A BAX	28,84	6,221
33A BCL2	34,987	6,758		38A BCL2	34,221	7,776
33A BECLIN	33,374	14,932		38A BECLIN	26,788	5,002

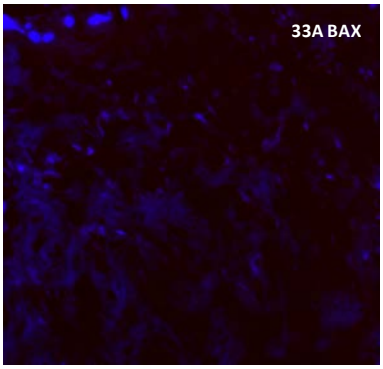


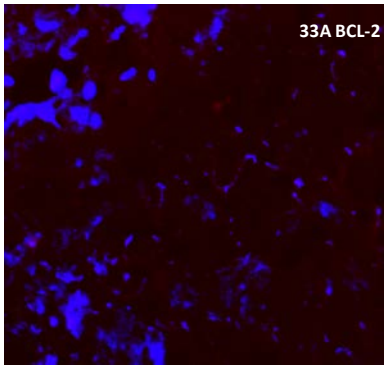
2 CABG (Hepsi erkek) (Inflammation Grade aynı) Apoptoz > Anti-Apoptoz ≥ Otofaji

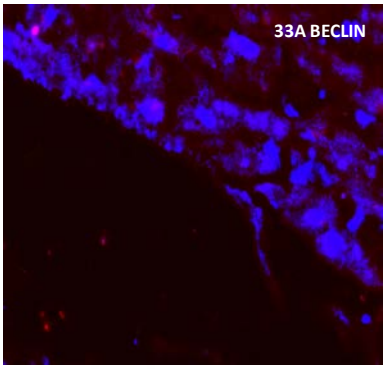


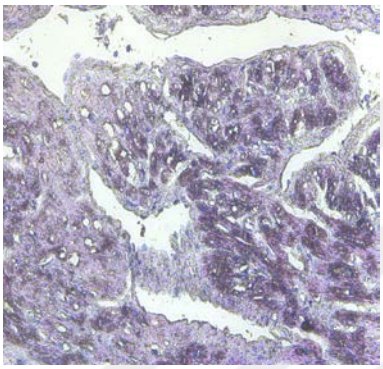
1 CABG (Hepsi erkek) (Inflammation Grade aynı)

Anti-apoptoz > Apoptoz > Otofaji

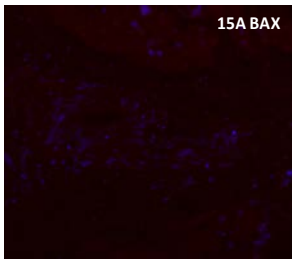


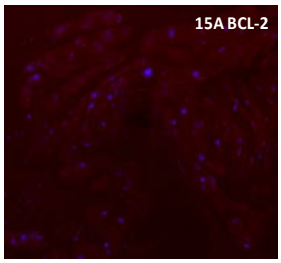


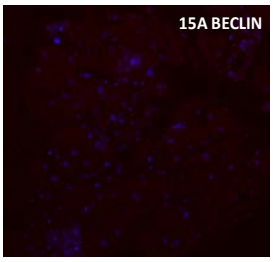


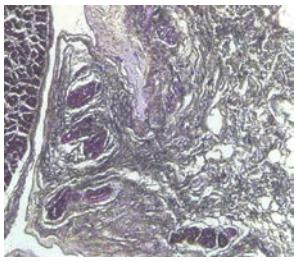


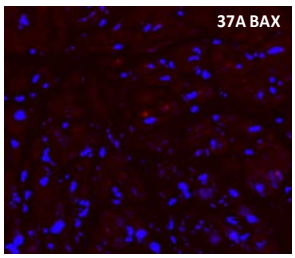
HOCM (Erkek Hasta)
Anti-apoptoz > Otofaji > Apoptozis

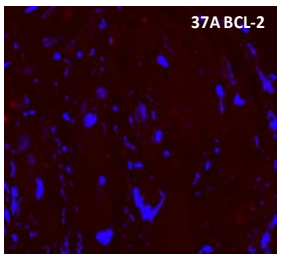


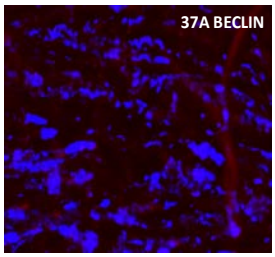


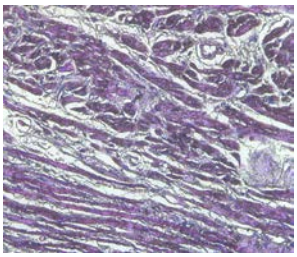






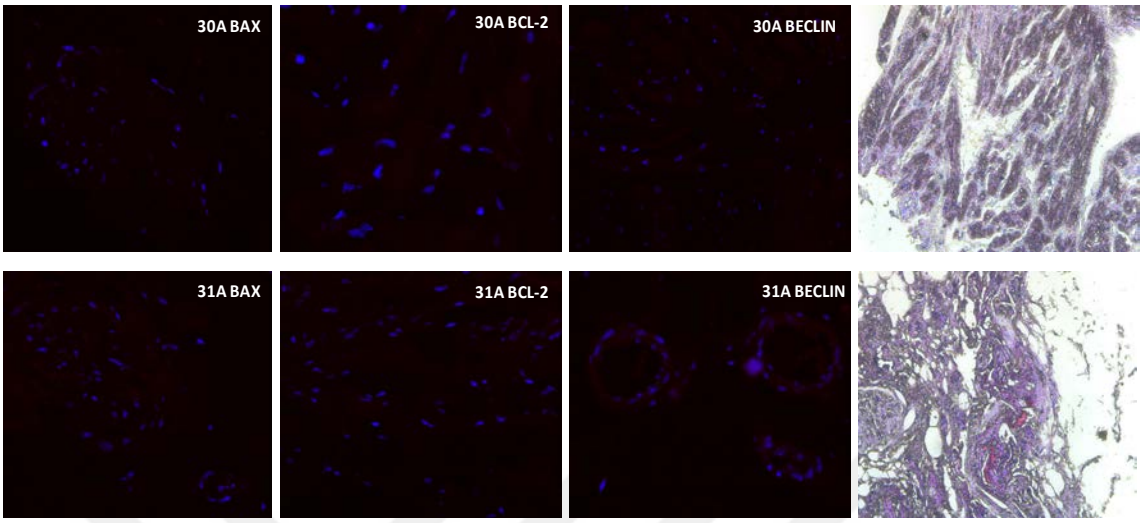






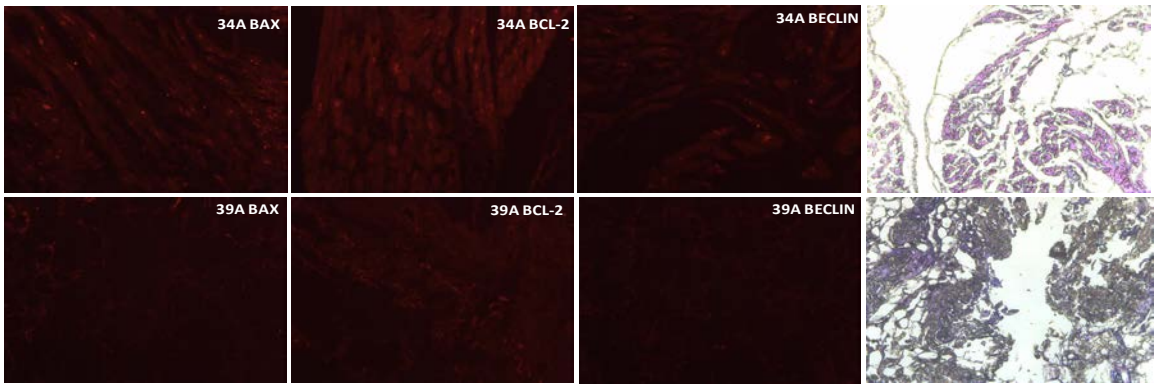
AVR (cinsiyetler farklı) (Inflammation Grade aynı)

Anti-apoptoz > Apoptoz ≥ Otofaji



2 MVR (cinsiyetlerden biri kadın)
Anti-apoptoz ≥ Apoptoz ≥ Otofaji

(Tüm ekspresyonlar yakın)



ASC Aort ANV

Anti-apoptoz > Apoptoz ≥ Otofaji

İSTATİSTİK YÖNTEM

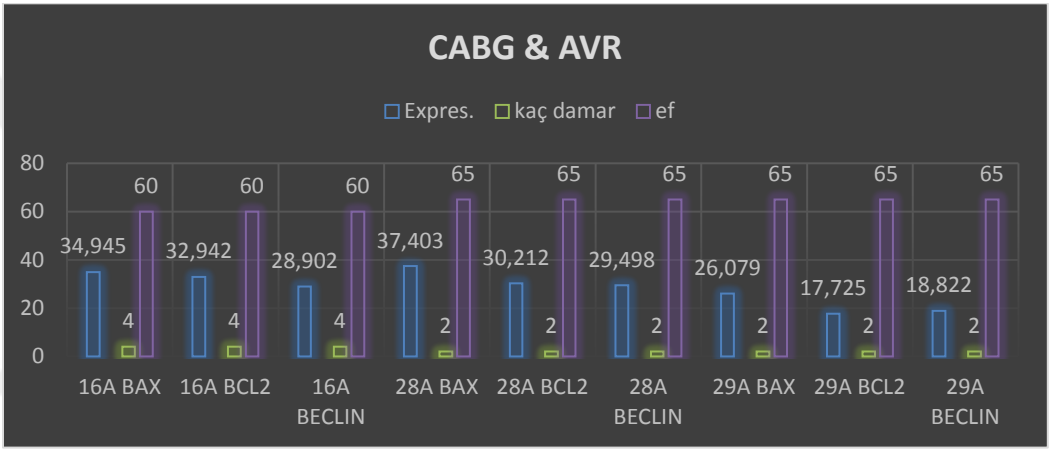
Tanımlayıcı istatistikler, vaka verilerini tanı grubuna göre özetlemek için kullanılmıştır. Devamlı değişkenler; ortalama, standart sapma, minimum, maksimum değerleri kullanılarak, kategorik değişkenler için ise oran ve yüzde değerleri kullanılarak özetlenmiştir. Normal dağılan ikiden fazla gruplu sayısal değişkenlerin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi, normal dağılmayan değişkenlerde Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. İki grup arasındaki karşılaştırmalar ise, normal dağılan değişkenler için Student t testi, normal olmayan dağılım gösteren değişkenler için Mann Whitney U testi kullanılarak yapılmıştır. Kategorik değişkenler çapraz tablo istatistikleri (ki kare testi, fisher testi) kullanılarak analiz edilmiştir. Çapraz tablo istatistiklerinde; analizde kullanılacak testin hipotezi sağlanmadığında, gerekli dönüşümler (grup birleştirmesi) yapılarak veriler tekrar analiz edilmiştir. Genel anlamlılık düzeyi (P) 0.05 olarak belirlenmiştir. Analizlerin yapılmasında SPSS 12.0 (SPSS Inc, Chicago USA) programı kullanılmıştır.

TARTIŞMA

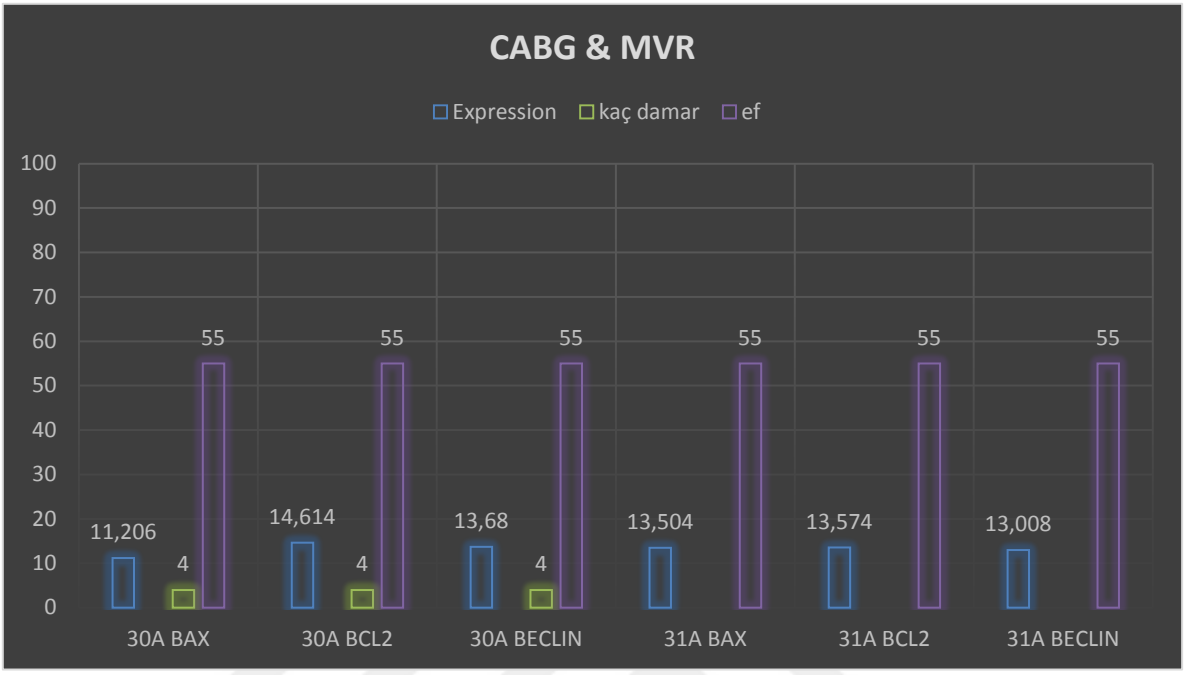
Koroner arter hastaliği şüphesi nedeniyle tanısal anjio yapılmış ve coroner arter hastalığı kesinleşmiş olan ve bu nedenle tekli ikili üçlü yada dörtlü By-pass kararı alınmış pre-op ve post-op ef değerleri %50-60 arasında olan hastalar ile ameliyat öncesi coroner anjiografileri normal ya da hafif plaklı ve yine ameliyat öncesi ve sonrası ekolarında ef'si %50-60 arasında olan mvr (my yada md nedeniyle), avr (ay yada ad nedeniyle) , benthall operasyonu (asendan aort anevrizması nedeniyle) , miyektomi (hocm nedeniyle) yapılan hastalardan ameliyat sırasında alınan epikardiyal doku örneklerinde bax (apoptoz) , bcl-2 (antiapoptoz) ,beclin (otofaji) protein ekspresyon oranları bakıldı. (sonuçlar dosyada gönderildi.)

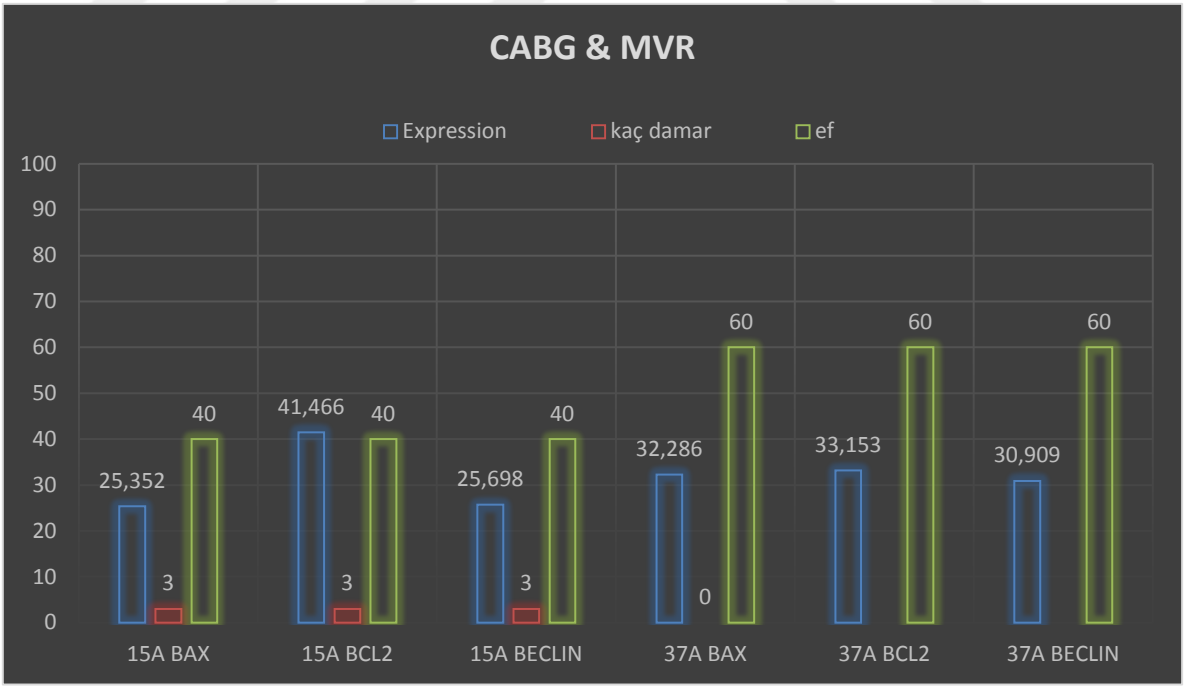
Myokardiyal iskemi nedeniyle by-pass yapılan hastalarda bax >beclin oranının görülmesi iskeminin sadece nekroz değil apoptoz ve otofaji yoluyla da myositlerde ciddi ölüme yol açtığı (ef'leri korunmuş olsa bile) görülmüştür.İskemisi uzun süredir var olan bu hastalarda iskemik sürecin ağırlaşması ve hücre içi enerjinin azalması sonrası hücre membran hasarı ile başlayan nekroza gidiş sürecinde hücre içine giren kalsiyumun direkt caspasları uyarabildiği yada mitokondri üzerinden intensek apopitozu başlatabileciği bilinmektedir.

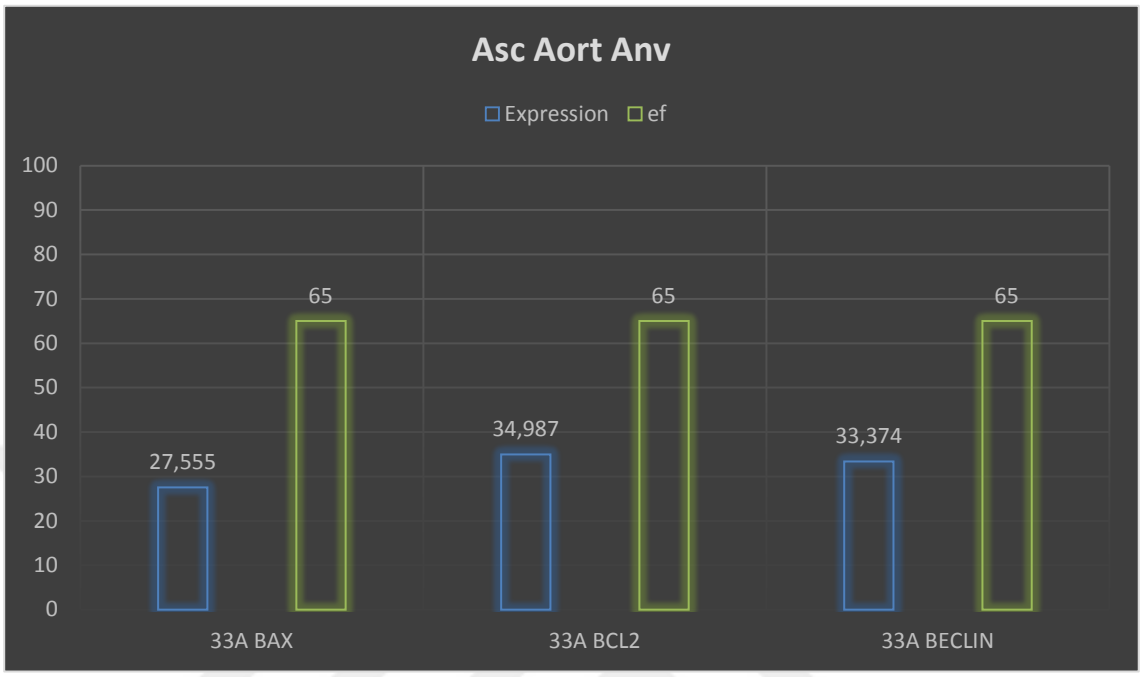
Kalp duvarındaki hücrelerin sadece %30 u myosittir ancak bu hücrelerde oksijen tüketimi üst seviyede olduğu için iskemi ve iskemi ile tetiklenen apopitotik sürecin ağırlıkla bu hücrelerde gelişmesi beklenmelidir. Kalp duvarında bax artışı ile belirlenen apopitoz artışının iskemik myositlerde izlendiği düşünülmüştür. Bu süreçte kalp duvarındaki hücrelerde genel besin azlığının beclin üzerinden otofajiyi uyardığı düşünülebilir.



Koroner anjiografileri normal ve ef'leri korunmuş olan (mvr,avr,myektomi,benthall) hastalarda ise bcl-2 ekspresyonunun yüksek görülmesi hücrlerin ölümden kaçtığının ve yine bu hastalarda beclim ekspresyonlarının anlamlı oranda artmış olması hücrelerin ameliyata neden olan fiziksel streslere karşı adaptasyon kapasitelerinin aşıldığının ve otofaji yoluyla myosit ölümünün başladığının ve kalbin dilate olmaya başladığının bir göstergesi olabilir.


CABG & MVR
Expression
kaç damar
ef
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
11,206
4
55
14,614
4
55
13,68
4
55
13,504
55
13,574
55
13,008
55
30A BAX
30A BCL2
30A BECLIN
31A BAX
31A BCL2
31A BECLIN


CABG & MVR
Expression
kaç damar
ef
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
25,352
3
40
41,466
3
40
25,698
3
40
32,286
0
60
33,153
60
30,909
60
15A BAX
15A BCL2
15A BECLIN
37A BAX
37A BCL2
37A BECLIN



Kalp duvarında iskemik bulguların saptanmadığı hasta grubunda (insan hücrelerinin yaşaması için yeterli uyarı aldığında yani normal doğal ortamlarında olduğu gibi) kalp duvar hücreleri bcl-2 ekspresyonu göstermekteydiler ve bax ekspresyonları düşüktü. Bu kalp duvar hücrelerinde hücre ölümüne neden olabilecek yoğunlukta bir stressin olmadığını düşündürmüştür. Ancak kalp duvar hücrelerinin zorlanması ve yüksek enerji ihtiyaçları ortamdaki enerji kaynaklanının tükenmesine ve besin azlığı üzerinden otofajiyi uyardığını düşündürmüştür. Burda enerji kaynağı kısa vadede oksijen ancak uzun vadede şekerler ve diğer enerjiye dönüştürülebilecek maddeleri içerir.Aort stenozuna karşı çalışan kalp kası bu bölgeye ulaşan oksijenin büyük kısmını kullanacaktır. Kalp duvarındaki diğer hücreler ve bazı kalp kası hücreleri oksijen yetersizliği sonrası hücrede enerjiye dönüştürebilecekleri maddeleri kullanıp son aşamada otofajiye gittiği düşünülebilir. Benzer şekilde iskemik kalp duvarında da oksijen ve ardından enerjiye dönüştürülebilecek maddelerin kullanımı sonrası otofaji geliştiği düşünülebilir.

SONUÇ

Koroner arter hastalığı nedenıyle CABG yapılan ve koroner arter hastalığı olmayan kapak,Hocm,asendan aort anevrizmalı hastaların epikardıyal dokularında bax, bcl-2 ve beclin ekspresyon seviyelerini incelemek ve bu bileşiklerin seviyelerin bu hastalıkların patogenezine etkisini değerlendirmek amacıyla, 31 CABG li , 3 tane Mitral yetersizlk nedenıyle MVR yapılmış 2 tane aort yetersizliği nedenıyle AVR yapılmış 1 tane HOCM nedeniyle myektomi yapılmış ve 1 tane asendan aort anevrizması nedenıyle Benthall opersyonu yapılmış hastalarınincelendiği bu çalışmada;

• Hasta(CABG lı) ve kontrol örneklerinin tümünde, farklı seviyelerde de olsa BAX,BCL-2 ve BECLİN ekspresyonu olduğu,

• Enflamasyon düzeyinin, Bax ve Beclin ekspresyonu için belirleyici olduğu,

• Enflamatuvar karakter taşıyan CABG lihastalarda enflamasyona paralel olarak özelliklle Bax ekspresyonunun artış gösterdiği,

• İskemik komponenti olmayan MVR,AVR ve Myektomi yapılan hastalarda ise Bcl-2 ekspresyonlarının CABG lı hastalara göre çok daha fazla artış gösterdiği,

•CABG li hastalara artan enflmasyon oranının muhtemel iskemık nekroza seconder geliştiği;aynı hasta grubunda Bax ekspirasyon oranının da yüksek olması Cabg yapılan koroner arter hastalarında iskeminin sadece koagülasyon nekronu değil aynı zamanda ciddi oranda apoptozuda tetiklediğini düşündürdü.

•Cabg yapılan hasta grubunda koroner kan akımı bypass greftleriyle yenıden sağlanacağı için iskemide olan ve oksijenlenmiş kanla tekrar karşılaşan myositlerde serbest radikal hasasrı ile apoptoz devm edecek buda yüksek Bax ekspirasyonuna neden olacaktır.

• Cabg lı hasta grubunda yüksek bax ekspirasyonuna ilaveten hastalarda bcl-2 ekspirasyonunda artmış olması bcl-2 ekspirasyonunun ölüme direnen mıyositler temsil ettiğinden iskeminin olmadığı kontrol gruplarında ki yüksek bcl-2 seviyeleride göz önüne alındığında Cabg li hastalarda ki yüksek bax ekspirasyonlarının direkt iskemi nedenli olduğu anlaşılmıştır

•Yüksek bcl- ekspirasyonuna sahip avr mvr ye giden hastalarda fizksel strese maruz kalan myosıtlerın ölüme direndiği görülmüştür.

• Avr ve Mvr yapılmış ve yüksek bcl-2 ekspresyonu gösteren hastalarda beclin ekspirasyonunun da artmış olması myositler artmış strese karşı artık adaptasyon kapasitesinin sonuna gelindiğini ve iskemi olmadan mysitlerin otofaji yoluyla ölüme gittiklerini göztermiştir.

• Hipertrofik Obstruktif kardıomıyopatıli hastalarada ise genetic olarak kalınlaşmış myositlerde en yüksek oranda beclin ekspirasyonunun olması iskemi ve fizksel stress olmasa bile hücre içerisinde artmış protein sentezinin hücrelerin depolama kapasitesini aştığında otofaji yoluyla myositleri ölüme götürmektedir.

• Asendan aort anevrizması nedenıyle asendan aort greft yapılan hastalarda HOCM hastalarıyla benzer sonuçlar alınmıştır.

Bu sonuçlar doğrultusunda, iskeminin myositler için en güçlü ölüm habercisi olduğu,hıpoksiye yol açarak koagulasyon nekrozuna neden oladuğu gibi yine yüksek oranda apoptozu tetıklediği anlaşılmıştır.İsekminin olmadığı vaklarda ise myositlerin ölüme direndiği ve yüksek oranda adaptasyon gösterdiği ancak adaptasyon kapasitesinin aşılmasıyla birlıkte ölüme gittiği faka bu ölümün nekroz yada apoptoz yoluyla değil daha çok otofaji yoluyla olduğunu gösterdik .Özellıkle bu durum koroner arter hastalığı olmayan orta-ileri derecede kapak hastalığı olanlarda amelıyat zamanlamasında kullanılabilr.

REFERANSLAR

- Auten RL, Davis JM: Oxygen toxicity and reactive oxygen species: thedevil is in the details. Pediatr Res 66:121, 2009. [R eaktif oksijen türevlerinin üretimi, yıkımı ve hücre hasarındaki rolleri ile ilgili bir derleme]
- Balaban RS, Nemoto S, Finkel T: Mitochondria, oxidants, and aging.
- Cell 120:483, 2005. [Serbest radikallerin yaşlanm adaki rolü konusunda iyi bir derleme]
- Calado RT, Young NS: Telomere diseases. N Engl J Med 361:2353,
- 2009. [Telom erlerin tem el biyolojisi ve anorm alliklerinin kanser, yaşlanma ve diğer hastalıklardaki etkisi konusunda mükemmel bir derleme]
- Chipuk JE, Moldoveanu T, Llambl F, et al: The BCL-2 family reunion.
- Mol Cell 37:299, 2010. [Apoptoz düzenleyici protein ailesi BCL-2'nin biyokim yası ve biyolojisi konusunda bir derleme]
- de Groot H, Rauen U: Ischemia-reperfusion injury: processes in pathogenetic networks: a review. Transplant Proc 39:481, 2007. [İskem ireperfiizyon hasarında intrinsik hücre hasarının ve inflam atuar cevabın rolü konusunda bir derleme]
- Dong Z, Saikumar P, Weinberg JM, Venkatachalam MA: Calcium in cell injury and death. Annu Rev Pathol 1:405, 2006. [Kalsiyum ve hücre hasarı arasındaki ilişkiler konusunda bir derleme]

- Elliott MR, Ravichandran KS: Clearance of apoptotic cells: implications in health and disease. J Cell Biol 189:1059, 2010. [Apoptotik hücrelerin tem izlenm e m ekanizm alan ve bu tem izlik yolaklarındaki anorm alliklerin nasıl hastalıklara yol açtığı konusunda mükemmel bir derleme]
- Frey N, Olson EN: Cardiac hypertrophy: the good, the bad, and the ugly. Annu Rev Physiol 65:45, 2003. [Kas hipertrofisi mekanizm alan konusunda, kalbin örnek olarak kullanıldığı m ükem m el bir tartışma]
- Galluzzi L, Aaronson SA, Abrams J, et al: Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes. Cell Death Differ 16:1093, 2009. [Ölü hücreleri tanımak ve ölçmek için kullanılan m orfolojik ve diğer teknikler ile ilgili pratik bir özet]
- Haigis MC, Yankner BA: The aging stress response. Mol Cell 40:333 2010. [Yaşlanma sürecinin kontrolünde hücresel streslerin rolü konusunda bir derleme]
- Hotchkiss RS, Strasser A, McDunn JE, Swanson PE: Cell death. N Engl J Med 361:1570, 2009. [Başlıca hücre ölümü yoluklan (nekroz,apoptoz ve otofaji ilişkili ölüm), bunlann klinik yansım aları ve hedefe yönelik tedavideki yerleri]
- Kenyon CJ: The genetics of ageing. Nature 464:504, 2010. [Yaşlanmayı etkileyen genler konusunda, insan genetik sendromlaRInı ve mutant model organizm alan temel alan mükemmel bir derleme]
- Kroemer G, Marino G, Levine B: Autophagy and the integrated stress response. Mol Cell 40:280, 2010. [Otofajinin biyolojisi, biyokim yasal yoluklan ve fizyolojik rolleri konusunda bir tartışma]

- Kundu M, Thompson CB: Autophagy: basic principles and relevance to disease. Annu Rev Pathol 3:427, 2008. [Otofajinin biyolojisi ve çeşitli hastalık durum larındaki potansiyel katkısı konusunda bir tartışma]

- Lin JH, Walter P, Yen TSB: Endoplasmic reticulum stress in disease pathogenesis. Annu Rev Pathol 3:399, 2008. [Hatalı katlanmış protein cevabı ve katlanm am ış proteinlerin başlattığı ER stresinin biyolojisi ve hastalıklarla ilişkisi konusunda bir derleme]
- Lombard DB, Chua KF, Mostoslavsky R, et al: DNA repair, genome stability, and aging. Cell 120:497, 2005. [Hücresel yaşlanm ada DNA hasarının rolü]
- McKinnell IW, Rudnicki MA: Molecular mechanisms of muscle atrophy. Cell 119:907, 2004. [Hücresel atrofi m ekanizm alan konusunda bir tartışma]
- Newmeyer DD, Ferguson-Miller S: Mitochondria: releasing power for life and unleashing the machineries of death. Cell 112:481, 2003. [Mitokondri fonksiyonunun ve hücre ölümündeki rolleri konusunda mükemmel bir derleme]
- Şahin E, DePinho RA: Linking functional decline of telomeres, mitochondria and stem cells during ageing. Nature 464:520, 2010. [Yaşlanm ada rolü olan kök hücre anorm allikleri ile ilgili mükemmel bir derleme]
- Tosh D, Slack JM: How cells change their phenotype. Nat Rev Mol Cell
- Biol 3:187, 2002. [M etaplazi, kök hücrelerin rolü ve genetik programlanm a konusunda bir derleme]

- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 39:44, 2007. [R ea ktif oksijen ve nitrojen kaynaklı serbest radikaller, hücre hasan ndaki rolleri ve sinyal m olekülleri olarak fizyolojik fonksiyonlu n konusunda ilginç bir tartışma]
- Bradley JR: TNF-mediated inflammatory disease. J Pathol 214: 149,2008. [TNF'nin biyolojisi ve TNF antagonistleriıın klinik kullanımının genel özeti.]
- Carlson BM: Some principles of regeneration in mammalian systems.
- Anat Rec 287: 4, 2005. [Ekstrem ite ve organ rejenerasyom nm n evrim sel yönleri ve genel mekanizm aları üzerine özenli bir derleme.]
- Carmeliet P: Angiogenesis in life, disease and medicine. Nature 438:932, 2005. [N orm al ve anorm al anjiyogenezitı ana yönleri üzerine bir derlem]
- Charo IF, Ransohoff RM: The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. N Engl J Med 354: 610, 2006. [Inflam asyonda kemokinlerin fonksiyonları üzerine bir genel özet.]
- Fausto N: Liver regeneration and repair: hepatocytes, progenitor cells and stem cells. Hepatology 39: 1477, 2004. [Karaciğer rejenerasyonunun hücresel ve moleküler mekanizmaları üzerine bir derleme.].
- Gabay C, Lamacchia C, Palmer G: IL-1 pathways in infl animation and human diseases. Nat Rev Rheumatol 6: 232, 2010. [IL-l'in biyolojisi ve inflam atuar hastalıklardaki terapötik kullanımı üzerine mükemmel bir derleme.]

- Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT: Wound repair and regeneration. Nature 453: 314, 2008. [D oku rejenerasyonu ve onarımın ilkeleri üzerine mükemm el bir derleme.]
- Hynes RO: Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. Cell110: 673, 2002. [Integrin sinyal sisteminin, ESM kom ponentlerinin hücre içi sinyal ileti yolakları ile ilişkisine yönelik moleküler mekanizmalar üzerine mükemmel bir derleme.]
- Jiang D, Liang J, Noble PW: Hyaluronans in tissue injury and repair.
- Annu Rev Cell Dev Biol 23: 435, 2007. [Bir ana ESM protein ailesinin doku onanm ındaki rolü üzerine bir irdeleme.]
- Khanapure SP, Garvey DS, Janero DR, et al: Eicosanoids in inflammation: biosynthesis, pharmacology, and therapeutic frontiers. Curr Top Med Chem 7: 311, 2007. [inflam atuar m edyatörlerin bu önem li sınıfının özelliklerinin bir özeti.]
- Lentsch AB, Ward PA: Regulation of inflammatory vascular damage. J Pathol 190: 343, 2000. [Endotel haşan ve artm ış dam ar geçirgenliği m ekanizm alarının irdelenmesi.]
- Ley K, Laudanna C, Cybulsky MI, Nourshargh S: Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. Nat Rev Immunol 7: 678, 2007. [inflam asyon yerlerinde lökosit toplanm ası üzerine m odern bir irdelem e.]

- Martin P, Leibovich SJ: Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad, and the ugly. Trends Cell Biol 15: 599, 2005. [İltihap hücrelerinin onanındaki multipl rolleri üzerine iyi bir derleme.]
- Masters SL, Simon A, Aksentijevich I, Kastner DL: Horror autoinflammaticus: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease. Annu Rev Immunol 27: 621, 2009. [İnflam azom kom ponentlerindeki fonksiyon kazanmış mutasyonları neden olduğu otoinflamatuar sendromlar üzerine mükemmel bir irdeleme.]
- McAnully RJ: Fibroblasts and myofibroblasts: their source, function,and role in disease. Int J Biochem Cell Biol 39: 666, 2007. [Stroma hücrelerinin iki ana tipinin ve bunlann doku onanını ve fibrozisdeki rollerinin irdelenmesi.]
- Seçilmiş Klinik Doku Onarımı ve Fibrozis Örnekleri 73
- Muller WA: Mechanisms of leukocyte transendothelial migration. Annu Rev Pathol 6: 323, 2011. [Lökositlerin endotelden geçiş m ekanizmaları üzerine özenli bir derlem e.]
- Nagy JA, Dvorak AM, Dvorak HF: VEGF-A and the induction of pathological angiogenesis. Annu Rev Pathol 2: 251, 2007. [Büyüme fakttörlerinin VE GF ailesi ve bunların kanser, inflamasyon ve çeşitli hastalık durumlarındaki anjiyogenezdeki rolleri üzerine bir derleme.]
- Nathan C, Ding A: Nonresolving inflammation. Cell 140: 871, 2010.[Kronik inflam asyona yol açan anorm alliklerin irdelenm esi.]

- Page-McCaw A, Ewald AJ, Werb Z: Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling. Nat Rev Mol Cell Biol 8: 221, 2007.[Doku onarımında matriksi modifiye eden enzim lerin fon kisyonu üzerine bir derleme.]
- Papayannapoulos V, Zychlinsky A: NETs: a new strategy for using old weapons. Trends Immunol 30: 513, 2009. [N ötrofillerin m ikroplan tahrip etme mekanizm alarından yeni bulunan biri üzerine derleme.]
- Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K, Lambris JD: Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. Nat Immunol 11:785, 2010. [K om plem an sistem inin aktivasyonu, fon ksiyonları ve hastalıktaki rollerinin güncel g en el özeti.]
- Rock KL, Kono H: The inflammatory response to cell death. Annu Rev Pathol 3: 99, 2008. [Immün sistem in nekrotik hücreleri nasıl tanıdığı üzerine mükemmel bir irdeleme.]
- Schultz GS, Wysocki A: Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing. Wound Repair Regen 17: 153, 2009. [Büyüme faktörlerin in ESM tarafından düzenlenmesinin irdelenmesi.]
- Schroder K, Tschopp J: The inflammasomes. Celi 140: 821, 2010. [Ölü hücre ürünleri, birçok yabancı ve anormal madde ve bazı mikroplan tanıyan hücresel işlevler üzerine mükemmel bir derleme.]
- Segal AW: How neutrophils İdil microbes. Annu Rev Immunol 23:197, 2005. [Nötrofillerin m ikrobisid m ekanizm alan üzerine m ükemmel bir derleme.]

- Stappenbeck TS, Miyoshi H: The role of stromal stem cells in tissue regeneration and wound repair. Science 324: 1666, 2009. [Onarımda doku kök hücrelerinin rolü üzerine mükemmel bir derleme.]
- Stearns-Kurosawa DJ, Osuchowski MF, Valentine C, et al: The pathogenesis of sepsis. Annu Rev Pathol 6: 19, 2011. [Sepsis ve septik şoktaki patojenik m ekanizm alar konusundaki güncel kavram ların irdelenem si.
- Takeuchi O, Akira S: Pattern recognition receptors and inflammation.Cell 140: 805, 2010. [Toll-like reseptörler ile pattern tanıyan diğer reseptör aileleri ve bunların konak savunm ası ve inflam asyondaki rollerininm ükem m el bir genel özeti.]
- Wynn TA: Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. J Pathol214: 199, 2008. [Kronik enfeksiyonlardaki fibrotik reaksiyonlarda immün sistem in rolünün vurgulandığı, fibrozisin hücresel m ekanizm alanüzerine bir genel özet.]
- Yamanaka S, Blau HM: Nuclear reprogramming to a pluripotent state by three approaches. Nature 465: 704, 2010. [R ejeneratif tıpta iPS hücrelerinin üretimi için heyecan verici bir teknoloji konusunda bir derleme

- Abrial M, Da Silva CC, Pillot B, Augeul L, Ivanes F, TeixeiraG, Cartier R, Angoulvant D, Ovize M, Ferrera R (2014) Cardiac fibroblasts protect cardiomyocytes against lethal ischemia-reperfusion injury. J Mol Cell Cardiol 68:56–65. doi:10.1016/j.yjmcc.2014.01.005
- Andersen HC (1837) The emperor’s new clothes. C. A. Reitzel,Copenhagen

- Anversa P, Nadal-Ginard B (2002) Myocyte renewal and ventricular remodelling. Nature 415:240–243. doi:10.1038/415240a
- Aurora AB, Porrello ER, Tan W, Mahmoud AI, Hill JA, Bassel-Duby R, Sadek HA, Olson EN (2014) Macrophages are required for neonatal heart regeneration. J Clin Investig 124:1382–1392.doi:10.1172/JCI72181
- Bahi N, Zhang J, Llovera M, Ballester M, Comella JX, SanchisD (2006) Switch from caspase-dependent to caspase-independent death during heart development: essential role of endonu-clease G in ischemia-induced DNA processing of differentiated cardiomyocytes. J Biol Chem 281:22943–22952. doi:10.1074/jbc.M601025200
- Baldi A, Abbate A, Bussani R, Patti G, Melfi R, Angelini A,Dobrina A, Rossiello R, Silvestri F, Baldi F, Di Sciascio G (2002)Apoptosis and post-infarction left ventricular remodeling. J MolCell Cardiol 34:165–174. doi:10.1006/jmcc.2001.1498
- Bauersachs J, Bouloumie A, Fraccarollo D, Hu K, Busse R, ErtlG (1999) Endothelial dysfunction in chronic myocardial infarction despite increased vascular endothelial nitric oxide synthase and soluble guanylate cyclase expression: role of enhanced vascular superoxide production. Circulation 100:292–298
- Baum J, Duffy HS (2011) Fibroblasts and myofibroblasts: what are we talking about? J Cardiovasc Pharmacol 57:376–379.

doi:10.1097/FJC.0b013e3182116e39 Basic Res Cardiol (2016) 111:31 Page 9 of 13 31

- Baxter GF (2002) The neutrophil as a mediator of myocardial ischemia-reperfusion injury: time to move on. Basic Res Cardiol97:268–275. doi:10.1007/s00395-002-0366-7
- Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, Yan SM, Finato N, BussaniR, Nadal-Ginard B, Silvestri F, Leri A, Beltrami CA, Anversa P(2001) Evidence that human cardiac myocytes divide aftermyocardial infarction. N Engl J Med 344:1750–1757. doi:10.1056/NEJM200106073442303
- Benjamin IJ, Jalil JE, Tan LB, Cho K, Weber KT, Clark WA(1989) Isoproterenol-induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis. Circ Res 65:657–670
- Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, Zdunek S, Barnabe-Heider F, Walsh S, Zupicich J, Alkass K, Buchholz BA, Druid H, Jovinge S, Frisen J (2009) Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. Science 324:98–102. doi:10.1126/science.1164680
- Bialik S, Geenen DL, Sasson IE, Cheng R, Horner JW, Evans SM, Lord EM, Koch CJ, Kitsis RN (1997) Myocyte apoptosis during acute myocardial infarction in the mouse localizes to hypoxic regions but occurs independently of p53. J Clin Investig 100:1363–1372. doi:10.1172/JCI119656

- Bing OH (1994) Hypothesis: apoptosis may be a mechanism for the transition to heart failure with chronic pressure overload.J Mol Cell Cardiol 26:943–948. doi:10.1006/jmcc.1994.1115
- Brutsaert DL (2003) Cardiac endothelial-myocardial signaling: its role in cardiac growth, contractile performance, and rhythmicity.Physiol Rev 83:59–115. doi:10.1152/physrev.00017.2002
- Cai L, Wang Y, Zhou G, Chen T, Song Y, Li X, Kang YJ (2006) Attenuation by metallothionein of early cardiac cell death via suppression of mitochondrial oxidative stress results in a prevention of diabetic cardiomyopathy. J Am Coll Cardiol 48:1688–1697. doi:10.1016/j.jacc.2006.07.022
- Canbay A, Friedman S, Gores GJ (2004) Apoptosis: the nexus of liver injury and fibrosis. Hepatology 39:273–278. doi:10.1002/hep.20051
- Cesselli D, Jakoniuk I, Barlucchi L, Beltrami AP, Hintze TH,Nadal-Ginard B, Kajstura J, Leri A, Anversa P (2001) Oxidative stress-mediated cardiac cell death is a major determinant ofventricular dysfunction and failure in dog dilated cardiomy-opathy. Circ Res 89:279–286
- Chandrashekhar Y, Sen S, Anway R, Shuros A, Anand I (2004) Long-term caspase inhibition ameliorates apoptosis, reduces myocardial troponin-I cleavage, protects left ventricular function, and attenuates remodeling in rats with myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 43:295–301

- Chatelain P, Latour JG, Tran D, de Lorgeril M, Dupras G,Bourassa M (1987) Neutrophil accumulation in experimental myocardial infarcts: relation with extent of injury and effect ofreperfusion. Circulation 75:1083–1090
- Chen YW, Pat B, Gladden JD, Zheng J, Powell P, Wei CC, CuiX, Husain A, Dell'italia LJ (2011) Dynamic molecular and histopathological changes in the extracellular matrix and inflammation in the transition to heart failure in isolated volüme overload. Am J Physiol Heart Circ Physiol 300:H2251–H2260.doi:10.1152/ajpheart.01104.2010
- Cheng W, Kajstura J, Nitahara JA, Li B, Reiss K, Liu Y, Clark WA, Krajewski S, Reed JC, Olivetti G, Anversa P (1996) Programmed myocyte cell death affects the viable myocardium after infarction in rats. Exp Cell Res 226:316–327. doi:10.1006/excr.1996.0232
- Cheng W, Li B, Kajstura J, Li P, Wolin MS, Sonnenblick EH,Hintze TH, Olivetti G, Anversa P (1995) Stretch-induced programmed myocyte cell death. J Clin Investig 96:2247–2259.doi:10.1172/JCI118280
- Cohen I, Rider P, Carmi Y, Braiman A, Dotan S, White MR,Voronov E, Martin MU, Dinarello CA, Apte RN (2010)Differential release of chromatin-bound IL-1alpha discriminates between necrotic and apoptotic cell death by the ability toinduce sterile inflammation. Proc Natl Acad Sci USA107:2574–2579. doi:10.1073/pnas.0915018107
- Condorelli G, Roncarati R, Ross J Jr, Pisani A, Stassi G, TodaroM, Trocha S, Drusco A, Gu Y, Russo MA, Frati G, Jones SP,Lefer DJ, Napoli C, Croce CM

(2001) Heart-targeted overexpression of caspase3 in mice increases infarct size and depresses cardiac function. Proc Natl Acad Sci USA 98:9977–9982.doi:10.1073/pnas.161120198

- Cotter TG (2009) Apoptosis and cancer: the genesis of a research field. Nat Rev Cancer 9:501–507. doi:10.1038/nrc2663
- Cronstein BN, Levin RI, Belanoff J, Weissmann G, HirschhornR (1986) Adenosine: an endogenous inhibitor of neutrophil-mediated injury to endothelial cells. J Clin Investig 78:760–770.
- doi:10.1172/JCI112638
- Crow MT, Mani K, Nam YJ, Kitsis RN (2004) The mitochon-drial death pathway and cardiac myocyte apoptosis. Circ Res95:957–970. doi:10.1161/01.RES.0000148632.35500.d9
- Cummins NW, Badley AD (2010) Mechanisms of HIV-associ-ated lymphocyte apoptosis: 2010. Cell Death Dis 1:e99. doi:10.1038/cddis.2010.77
- Curtis MJ, Pugsley MK, Walker MJ (1993) Endogenouschemical mediators of ventricular arrhythmias in ischaemic heart disease. Cardiovasc Res 27:703–719
- da Costa Martins PA, De Windt LJ (2008) Nix: the cardiac Styxbetween life and death. Circulation 117:338–340. doi:10.1161/ CIRCULATIONAHA.107.750125
- Davidson SM, Duchen MR (2007) Endothelial mitochondria: contributing to vascular function and disease. Circ Res100:1128–1141. doi:10.1161/01.RES.0000261970.18328.1d

- de Moissac D, Gurevich RM, Zheng H, Singal PK, KirshenbaumLA (2000) Caspase activation and mitochondrial cytochrome Crelease during hypoxia-mediated apoptosis of adult ventricularmyocytes. J Mol Cell Cardiol 32:53–63. doi:10.1006/jmcc.1999.1057
- Ohsumi Y. Molecular dissection of autophagy: two ubiquitin-like systems. Nat Rev Mol Cell Biol 2001;2:211-6.
- Shintani T, Klionsky DJ. Autophagy in health and disease: a double-edged sword. Science 2004;306:990-5.
- Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. Nature 2008;451:1069-75.
- Yang Z, Klionsky D. Eaten alive: a history of macroautophagy. Nat Cell Biol 2010;12:814-822.
- Xie Z, Klionsky DJ. Autophagosome formation: core machinery and adaptaion. Nat Cell Biol 2007;9:1102-9.
- Kroemer G, Marino G, Levine B. Autophagy and integrated stress response. Mol Cell 2010;40(2):280-293.
- Mehrpour M, Esclatine A, Beau I, Codogno P. Overwiew of macroautophagy regulation in mammalian cells. Cell Research 2010;20:748-762.
- Kamada Y, Funakoshi T, Shintani T, Nagano K, Ohsumi M, Ohsumi Y. Tor-mediated induction of autophagy via an Apg1 protein kinase complex. JCell Biol 2000; 150:1507-13.

- Shang L, Wang X. AMPK and mTOR coordinate the regulation of Ulk1 and mammalian autophagy initiation. Autophagy 2011;7(8):924-6.
- Scott RC, Schuldiner O, Neufeld TP. Role and regulation of starvation-induced autophagy in the Drosophila fat body. Dev Cell 2004;7:167-8.
- Blume-Jensen P, Hunter T. Oncogenic kinase signaling. Nature 2001;411:355-65.
- Meijer AJ, Codogno P. Regulation and role of autophagy in mammalian cells. Int J Biochem Cell Biol 2004;36:2445-62.
- Ari co S, Petiot A, Bauvy C, Dubbelhuis PF, Meijer AJ, Codogno P, Ogier-Denis E. The tumor suppressor PTEN positively regulates macroautophagy by inhibiting the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway. J Biol Chem 2001; 276:35243-6.
- Lia ng XH, Jackson S, Seaman M, Brown K, Kempkes B, Hibshoosh H, Levine B. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1.Nature 1999; 402:672-6.
- Pfisterer SG, Mauthe M, Codogno P, Proikas-Cezanne T. Ca2+/Calmodulin-dependent kinase signaling via CaMKI and AMPK contributes to theregulation of WIPI-1 at the onset of autophagy. Molecular Pharmacology September 6, 2011 doi:10.1124/mol.111.071761
- Ogi er-Denis E, Couvineau A, Maoret JJ, Houri JJ, Bauvy C, De Stefanis D, Isidoro C, Laburthe M, Codogno P. A heterotrimeric Gi3-protein

controlsautophagic sequestration in the human colon cancer cell line HT-29. J Biol Chem 1995;270:13-16.

- Inbal B, Bialik S, Sabanay I, Shani G, Kimchi A. DAP kinase and DRP-1 mediate membrane blebbing and the formation of autophagic vesicles during programmed cell death. J Cell Biol 2002;157:455-8.
- Schweichel JU, Merker HJ. The morphology of various types of cell death in prenatal tissues. Teratology 1973; 7:253-66.193 ACU Sağlık Bil Derg 2011(2):184-194
- Clarke PG. Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanisms.Anat Embryol (Berl). 1990;181:195-213.
- Gozuacik D, Kimchi A. Autophagy and cell death. Curr Top Dev Biol 2007;78:217-25.
- Levine B, Yuan J. Autophagy in cell death: an innocent convict? J Clin Invest 2005;115:2679-88.
- Lockshin RA, Zakeri Z. Cell death in health and disease. J Cell Mol Med 2007;11:1214-24.
- Krysko DV, Vanden Berghe T, D'Herde K, Vandenabeele P. Apoptosis and necrosis: detection, discrimination and phagocytosis. Methods2008;44:205-21.
- Bursch W. The autophagosomal-lysosomal compartment in programmed cell death. Cell Death Differ 2001;8:569-81.

- Blommaart EF, Krause U, Schellens JP, Vreeling-Sindelárová H, Meijer AJ. The phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors wortmannin and LY294002 inhibit autophagy in isolated rat hepatocytes. Eur J Biochem 1997;243:240-6.
- Seglen PO, Gordon PB. 3-Methyladenine: specific inhibitor of autophagic/lysosomal protein degradation in isolated rat hepatocytes. Proc Natl Acad Sci U S A. 1982;79:1889-92.
- Bursch W, Ellinger A, Kienzl H, Török L, Pandey S, Sikorska M, Walker R, Hermann RS. Active cell death induced by the anti-estrogens tamoxifen and ICI 164 384 in human mammary carcinoma cells (MCF-7) in culture: the role of autophagy. Carcinogenesis 1996;17:1595-607.
- Jia L, Dourmashkin RR, Allen PD, Gray AB, Newland AC, Kelsey SM. Inhibition of autophagy abrogates tumour necrosis factor alpha induced apoptosis in human T-lymphoblastic leukaemic cells. Br J Haematol 1997;98:673-85.
- Chi S, Kitanaka C, Noguchi K, Mochizuki T, Nagashima Y, Shirouzu M, Fujita H, Yoshida M, Chen W, Asai A, Himeno M, Yokoyama S, Kuchino Y.Oncogenic Ras triggers cell suicide through the activation of a caspase-independent cell death program in human cancer cells. Oncogene 1999;18:2281-90.
- Xue L, Fletcher GC, Tolkovsky AM. Autophagy is activated by apoptotic signalling in sympathetic neurons: an alternative mechanism of death execution. Mol Cell Neurosci 1999;14:180-98.

- Xue L, Borutaite V, Tolkovsky AM. Inhibition of mitochondrial permeability transition and release of cytochrome c by anti-apoptotic nucleoside analogues. Biochem Pharmacol 2002;64:441-9.
- Caro LH, Plomp PJ, Wolvetang EJ, Kerkhof C, Meijer AJ. 3-Methyladenine, an inhibitor of autophagy, has multiple effects on metabolism. Eur J Biochem 1988; 175:325-9.
- Gozuacik D, Kimchi A: Autophagy as a cell death and tumor suppressor mechanism. Oncogene 2004;23:2891-906.
- Vande Velde C, Cizeau J, Dubik D, Alimonti J, Brown T, Israels S, Hakem R, Greenberg AH. BNIP3 and genetic control of necrosis-like cell death through the mitochondrial permeability transition pore. Mol Cell Biol 2000;20:5454-68.
- Gozuacik D, Kimchi A. DAPk protein family and cancer. Autophagy 2006;2:74-9.
- Cárdenas-Aguayo Mdel C, Santa-Olalla J, Baizabal JM, Salgado LM, Covarrubias L. Growth factor deprivation induces an alternative non-apoptotic death mechanism that is inhibited by Bcl2 in cells derived from neural precursor cells. J Hematother Stem Cell Res 2003;12:735-48.
- Xue L, Fletcher GC, Tolkovsky AM. Mitochondria are selectively eliminated from eukaryotic cells after blockade of caspases during apoptosis. Curr Biol 2001;11:361-5.

- Yanagisawa H, Miyashita T, Nakano Y, Yamamoto D. HSpin1, a transmembrane protein interacting with Bcl-2/Bcl-xL, induces a caspase-independent autophagic cell death. Cell Death Differ 2003;10:798-807.
- Kim J, Klionsky DJ. Autophagy, cytoplasm-to-vacuole targeting pathway, and pexophagy in yeast and mammalian cells. Annu Rev Biochem 2000;69:303-42.
- Klionsky DJ, Cregg JM, Dunn WA Jr, Emr SD, Sakai Y, Sandoval IV, Sibirny A, Subramani S, Thumm M, Veenhuis M, Ohsumi Y. A unified nomenclature for yeast autophagy-related genes. Dev Cell 2003;5:539-45.
- Xu Y, Kim SO, Li Y, Han J. Autophagy contributes to caspase-independent macrophage cell death. J Biol Chem 2006; 281:19179-87.
- Yu L, Alva A, Su H, Dutt P, Freundt E, Welsh S, Baehrecke EH, Lenardo MJ. Regulation of an ATG7-beclin 1 program of autophagic cell death by caspase-8. Science 2004;304:1500-2.
- Shimizu S, Kanaseki T, Mizushima N, Mizuta T, Arakawa-Kobayashi S, Thompson CB, Tsujimoto Y. Role of Bcl-2 family proteins in a non-apoptotic programmed cell death dependent on autophagy genes. Nat Cell Biol 2004;6:1221-8.
- Reef S, Zalckvar E, Shifman O, Bialik S, Sabanay H, Oren M, Kimchi A. A short mitochondrial form of p19ARF induces autophagy and caspase independent cell death. Mol Cell 2006;4:463-75.
- Wiraman E, Vanden Berghe T, Lippens S, Agonistis P, Vanderabeele P. Autophagy: for better or for worse. Cell Research 2011;1-19.

- Eisenberg-Lerner A, Bialik S, Simon H-U, Kimchi A: Life and death partners. apoptosis, autophagy and the cross-talk between them. Cell DeathDiffer 2009; 16:966-75.
- Pattingre S, Bauvy C, Levade T, Levine B, Codogno P. Ceramide-induced autophagy: to junk or to protect cells? Autophagy 2009;5:558-60.
- Park K, Lee S, Kim T, Lee H, Lee C, Kim EH, Jang JY, Choi KS, Kwon MH, Kim YS. A human scFv antibody against TRAIL receptor 2 induces autophagic cell death in both TRAIL-sensitive and TRAIL-resistant cancer cells. Cancer Res 2007; 67:7327–34.
- Qian W, Liu J, Jin J, Ni W, Xu W. Arsenic trioxide induces not only apoptosis but also autophagic cell death in leukemia cell lines via up-regulation of Beclin-1. Leuk Res 2007;31: 329–39.
- Basciani S, Vona R, Matarrese P, Ascione B, Mariani S, Cauda R Malorni W, Straface E, Lucia MB. Imatinib interferes with survival of multi drug resistant Kaposi's sarcoma cells. FEBS Lett 2007;581: 5897–5903.
- Yang W, Monroe J, Zhang Y, George D, Bremer E, Li H. Proteasome inhibition induces both pro- and anti-cell death pathways in prostate cancer cells.Cancer Lett 2006;243:217–227.
- Karantza-Wadsworth V, Patel S, Kravchuk O, Chen G, Mathew R, Jin S White E. Autophagy mitigates metabolic stress and genome damage in mammary tumorigenesis. Genes Dev 2007;21:1621–1635.

- Mathew R, Kongara S, Beaudoin B, Karp C, Bray K, Degenhardt K, Chen G, Jin S, White E. Autophagy suppresses tumor progression by limitingchromosomal instability. Genes Dev 2007;21:1367–81.