

BÖLÜM 4

HÜCRE ÖLÜMÜNÜN TERSİNE ÇEVİRİLMESİ: ANASTAZ

Bakiye GÖKER BAĞCA¹
Çığır BİRAY AVCI²

GİRİŞ

Homeostazın korunmasında, hücre ölümü ve çoğalması arasındaki denge kritik önem taşımaktadır. Organizmanın bütünlüğünün korunabilmesi için işlevini kaybeden ya da DNA tamir mekanizmaları aracılığıyla tamir edilemeyecek ölçekte hasarlanan hücrelerin, sıkı bir genetik mekanizma ile denetlenen süreçleri kullanılarak öldürülmesi gerekmektedir. Hücrelerde farklı genetik mekanizmalar tarafından yönetilen alt tipleri içeren bu süreçler “programlı hücre ölümü” (programmed cell death) olarak tanımlanmaktadır. Hücre Ölümü Adlandırma Komitesi'nin (Nomenclature Committee on Cell Death; NCCD) 2018 yılında gerçekleştirdiği en güncel sınıflandırmaya göre morfolojik olarak nekroz ile apoptoza benzerliklerine göre ayırt edilebilen on iki farklı temel programlı hücre ölüm tipi tanımlanmıştır (1). Her ne kadar farklı moleküler süreçleri içerseler de tüm bu süreçlerin ortak noktası, hücrede ölüm programının bir kere başlatıldıktan sonra geri dönüşümsüz bir şekilde hücreyi ölüme götürdüğünün kabul edilmesidir.

Bununla birlikte Tang ve arkadaşları 2009 yılında kanser hücrelerinde farklı uygulamaların sitotoksik ve apoptotik etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında, hücrelerde ölümün indüklenmesinin ardından, apoptozu uyaran etmenin ortamdaki uzaklaştırılmasıyla apoptozun kesintiye uğradığını ve hücrelerin apoptotik karakterden uzaklaşarak, mitokondri membran bütünlüğü ve proliferasyon yeteneklerini tekrar kazanabildiklerini belirlemişlerdir (2). Bu sürecin sağlıklı hücrelerde de meydana gelerek bu hücrelerin onkojenik transformasyonuna katkı sunabileceği belirlenmiş ve hücrelerdeki bu fenomen, eski Yunancada “yeniden doğuş” anlamına gelen “anastaz” olarak tanımlanmıştır (3).

Programlı hücre ölüm tiplerinden apoptoz, nekroptoz, piroptoz ve ferroptozun geri dönüşerek anastazı indüklediği şimdiye kadar yapılan farklı çalışmalarda gösterilmiştir. Bu süreçlerin moleküler mekanizmaları aşağıda değerlendirilmiştir.

¹ Arş. Gör. Dr., Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD., bgbagca@adu.edu.tr,

² Doç. Dr., Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD., cigir.biray@ege.edu.tr

APOPTOZUN TERSİNE ÇEVİRİLMESİ

Programlı hücre ölümü tipleri arasında en iyi bilinen ve en çok araştırılanı, 1972 yılında Kerr ve arkadaşları tarafından tanımlanan ve “tip I hücre ölümü” olarak da bilinen apoptozdur. Mitozun tersi olarak, hücre canlılığını azaltmaya yönelik, kontrollü bir süreç olarak tanımlanmış, apoptotik cisimcikleri içeren karakteristik morfolojisi gösterilmiştir (4). Tanımlanmasının ardından, hücrelerin programlı şekilde ölüme gitmesinin temelindeki moleküler mekanizmalar, hücrelerin programlı şekilde ölüme gönderilebilmesi ve bazı durumlarda da bu ölümün engellenmesi gibi farklı prensipleri içeren pek çok alanda araştırmaların ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir. Apoptoz, yaşamın en temel regülatörlerinden biridir. Bu kontrolü, kaspazlar (cysteine-aspartic proteases, *CASP* genleri tarafından kodlanmaktadır) olarak adlandırılan apoptoz-ilişkili proteazlar ve Bcl2 ailesinin pro- ve anti-apoptotik üyeleri gerçekleştirmektedir. Apoptoz, iç (intrinsik) ve dış (ekstrinsik) uyarılara bağlı olarak indüklenen iki ayrı ölüm yoluğu olarak düzenlenmekte, “geri dönüşü olmayan nokta” olarak mitokondriden sitokrom C salınımını takiben bu iki yolak için sırasıyla *CASP9* ve *CASP8* kaspazları işlev göstermektedir. Kaspaz kaskadının son basamağında ise her iki yolak için de ortak şekilde *CASP3* sonlandırıcı kaspazı görev almaktadır. Bu sinyal transdüksiyonunu aracı lığıyla apoptotik cisimlerin oluşumu, hücre membranına fosfatidilserinden oluşan “beni ye” sinyalinin taşınması ve DNA fragmentasyonu süreçleri meydana gelerek hücre geri dönüşümsüz şekilde ölüme gitmektedir (5). Bununla birlikte güncel çalışmalar apoptozun “geri dönüşü olmayan nokta”sının geçilmesinin ardından, hatta apoptozun geç evrelerinden bile geri dönebildiğini göstermiş, bu fenomeni “anastaz” olarak adlandırmışlardır. Anastazın indüklenmesi için temel kriter ise apoptozu uyan etmenin ortamdan uzaklaştırılmasıdır (2, 3).

Apoptozu uyan etmenin uzaklaştırılmasının ardından, mitokondriyal membran potansiyeli bozulması, sitokrom C salınımı, mitokondri fragmentasyonu, kaspaz aktivasyonu, hücre yüzeyine fosfatidilserin sinyalinin translokasyonu, apoptotik cisimlerin oluşması, nükleer yoğunlaşma ve DNA fragmentasyonunun başlangıcı gibi farklı apoptoz basamaklarında bulunan hücrelerin apoptotik karakterden uzaklaşmayı başardıkları gösterilmiştir. (6). Hücrelerin bu süreçleri hangi mekanizmalarla gerçekleştirdiği bilinmemekle birlikte, canlı hücre görüntüleme sistemleri ve gen ekspresyon profillemeye çalışmalarına dayanılarak bazı olası mekanizmalar tanımlanmıştır. Bunlar arasında; otofaji ilişkili genlerin (*ATG12*, *SQSTM1*, *MFN* ve *OPA*) kodladığı proteinlerin hem mitofaji hem mitofüzyon aracılığıyla hücrenin enerji metabolizmasını düzenlemesi ve sitoplazmaya salınan sitokrom C gibi apoptotik faktörlerin degradasyonunu sağlaması; ısı şoku proteinlerinin (*HSP27*, *HSP40*, *HSP70* ve *HSP90*) sitoplazmadaki pro-apoptotik

proteinleri ve DNAazları degrade etmesi; hücre döngüsü arrestinin indüklenerek tamir mekanizmasının aktivasyonunu sağlayan genlerin (*MDM2*, *BTG1*, *CDK-N1A*, *TP53INP1*) düzenlenmesi ve anjiyogenezi destekleyen genlerin (*VEGFA*) aktivasyonu yoluyla hem besin alınmasının hem de atık uzaklaştırılmasının sağlanabilmesi bulunmaktadır (6-8).

NEKROPTOZUN TERSİNE ÇEVİRİLMESİ

Nekroptoz terimi, başlangıçta hücrenin tesadüfi şekilde ölmesi olarak tanımlanan nekrozun programlı ve kontrollü şeklini tanımlamak için kullanılmaktadır. Apoptozdaki hücre büzülmesinden farklı olarak nekroptozda hücreler şişerek membran bütünlüğünü kaybetmektedir (9).

Bu ölüm tipi, patojenler, interferonlar gibi dış maruziyetler nedeniyle hücre membranına ulaşan uyarıların; TNFR, TLR, FAS ve IFN reseptörleri aracılığıyla hücre içine transdüksiyonu ile başlamaktadır. Başlatılan sinyal iletimi nekroptozda temel regülatörlerden olan RIPK1 ve RIPK3'ün fosforilasyonu aracılığıyla “nekrozom” kompleksini oluşturmaktadır. Bu kompleks MLKL'nin fosforilasyonu ve oligomerizasyonunu tetiklemekte, oligomerler hücrenin iç membranına yerleşerek membran bütünlüğünün kaybına ve hücre içindeki Ca^{++} dengesinin bozulmasına neden olan porların açılmasını tetiklemektedir. Bu porların açılması hücrenin geçirgenliğini kalıcı olarak bozduğundan hücrenin geri dönüşsüz şekilde ölüme gittiği kabul edilmektedir (10).

Bununla birlikte nekroptozun geri dönüşü olmayan noktasını oluşturduğu düşünülen membranda porlar açılmasının farklı moleküler mekanizmalarla tersine çevrilebileceğini öneren çalışmalar bulunmaktadır. Nekroptotik hücrenin anastazında, hücre içi vezikül trafiğinde görevli “Endosomal sorting complexes required for transport-III (ESCRT-III)” kompleksini oluşturan proteinlerinin temel görevi üstlendiği düşünülmektedir. Membranı parçalanmakta olan hücreler bu kompleks aracılığıyla membranı sağlam olan bir hücrenin membranı ile füzyon oluşturmakta ve membran bütünlüğünü sağlamaktadır. Membran bütünlüğü sağlanan hücrelerin por içeren membranı eksozomal bir süreçle hücre dışına verdiği önerilmektedir. Bu süreçte ölmekte olan hücrenin dışındaki hücrelerin de sürece dahil edilmesi, apoptozdan farklı olarak “sessiz olmayan” bir fenomenin oluşmasına yol açmaktadır. Bu süreçte ESCRT-III kompleksinin temel bileşenlerinin yanı sıra hipoksi ilişkili genlerin, büyüme faktörlerini kodlayan genlerin ve “gap junction” ilişkili genlerin yer aldığı önerilmekte birlikte anastaz mekanizmasını indükleyen temel mekanizmanın detayları henüz bilinmemektedir (11, 12).

PİROPTOZUN TERSİNE ÇEVİRİLMESİ

Gasdermin aracılı programlı hücre ölümü olarak da bilinen piroptoz, mikrobiyal ajanlar ya da endojen hasarla tetiklenen inflamatuvar kaspazlar olan CASP1, CASP4, CASP5 ve CASP11'in düzenlediği hücre ölüm tipidir. Nekroptozla benzer şekilde hücre membranında bulunan reseptörlerin patojenik uyarımlarla indüklenmesinin ya da perforin-granzim sisteminin aktivasyonunun ardından pro-CASP1 aracılığıyla "inflamazom" yapısı meydana gelmekte ve CASP1 aktivasyonu gerçekleşmektedir. Bu aktivasyon bir dizi hücrel kaskadı aktive ederek hücre membranında GSDMD porlarının oluşumunu tetiklemekte, bu da hücre bütünlüğünün bozulmasına ve hücre içindeki K⁺ dengesinin kaybına yol açmaktadır. Por oluşumu hücre geçirgenliğini kalıcı olarak bozduğundan nekroptozla benzer şekilde hücrenin geri dönüşsüz şekilde ölüme gittiği kabul edilmektedir (13,14).

Bununla birlikte piroptozun da nekroptozdaki sürece benzer şekilde ESC-RT-III protein kompleksi tarafından geri döndürülebileceği önerilmektedir (12).

FERROPTOZUN TERSİNE ÇEVİRİLMESİ

Ferroptoz, demir bağımlı fosfolipit peroksidasyonu aracılığıyla gerçekleşen programlı hücre ölüm tipini tanımlamaktadır. Bu süreç, hücrede redoks homeostazının, demir işlenmesinin, mitokondriyal aktivitenin, aminoasit, lipit ve şeker metabolizmasının bozulmasına yol açmakta ve hücreyi ölüme götürmektedir (15). Mitokondriyal parçalanma, kaspaz aktivasyonu, nükleer kondenzasyon, hücre büzülmesi gibi apoptotik morfoloji görünmemekle birlikte, ölümün son aşamasında hücre membran parçalanması ve hücrenin düzgün yuvarlak bir biçim alması gözlenmektedir (16).

Apoptoz, nekroptoz ve piroptozun aksine ferroptoz indükleyicilerin ortamdaki uzaklaştırılması ya da ferroptotik inhibitörlerinin tek başına uygulanmasının ferroptotik hücre ölümünün geri döndürülmesi için yeterli olmadığı belirlenmiştir. Bu uygulamalara ek olarak, glutatyon veya ferrostatin-1 gibi demir mekanizması üzerinde etki gösteren moleküllerin ortama eklenmesi ile ferroptozun durdurulduğu ve anastazın indüklenebileceği önerilmiş olmakla birlikte, bu süreci yöneten mekanizmalar henüz tanımlanmamıştır (17).

İLERİ PERSPEKTİFLER

Elde edilen bulgular, anastazın farklı ölüm tiplerinin geri dönüşünü sağlayan ve evrimsel olarak hayatta kalmayı destekleyen intrinsik bir süreç olduğuna işaret

etmektedir. Bununla birlikte anastazın indüklenmesinin veya inhibe edilmesinin farklı potansiyel uygulama alanları bulunduğu öngörülmektedir.

Anastazın indüklenmesi stratejisi ile nöronlar ve kardiyomiyositler gibi farklılaşması ve çoğalması kısıtlı olan hücrelerin korunması; fotoreseptör hücrelerinde retinal dejenerasyonun önüne geçilebilmesi, beyin hasarını takiben ya da nörodjeneratif hastalıklarda nöronal hasar derecesinin azaltılması veya fonksiyonel iyileşme, kardiyomiyositlerde ortaya çıkan apoptozun geri döndürülmesi ile strese bağlı olarak kalbin fonksiyonel olarak iyileşmesi ve hepatositlerde indülenmesi ile karaciğer rejenerasyonunun desteklenmesi hedeflenebilecektir (6-8).

Bununla birlikte anastazın onkojenik dönüşümü desteklediği de göz önünde bulundurulmalıdır (3). Bu süreç özellikle DNA hasarı olan hücrelerin hayatta tutulması aracılığıyla mutasyonların birikimine neden olmakta ve onkojenik dönüşümü desteklemektedir. Ayrıca anastazın kanser hücrelerinin tedavi sürecinde apoptozdan ya da diğer ölüm tiplerinden kaçarak hayatta kalmalarını sağlayabilecek ek bir mekanizma olarak işlev yapabileceği öngörülmektedir. Bununla birlikte kanser hücrelerinin yanı sıra kanserde ilaç direnci ve nüksten sorumlu hücre grubunu oluşturan kanser kök hücrelerinde de köklülük ilişkili genlerin ekspresyon seviyesinde düzensizliğe neden olarak onkojeniteye katkı sağlayabilmektedir (18). Bu nedenle anastazın hedeflenmesi kanserin ilerlemesini ve tedavi direncinin gelişmesini önlemek veya durdurmak için yeni bir terapötik strateji olarak görülmektedir.

SONUÇ

Sonuç olarak, güncel bir fenomen olan anastazı düzenleyen mekanizmalar henüz aydınlatılmamıştır. İlk olarak apoptozun tersinir formu olarak ortaya koyulmuş olmakla birlikte ilerleyen çalışmalar, geri dönüşün sadece apoptoz ile sınırlı olmadığını göstermektedir. Mevcut bilgilerimizde büyük miktarda boşluk olmakla birlikte, artık programlanmış hücre ölümünün tek yönlü bir süreç olmadığı ve hücrenin membran bütünlüğünün bozulması ya da DNA fragmentasyonunun başlaması gibi ileri ölüm basamaklarından bile geri dönebildiği gösterilmiştir.

Anastaz alanındaki araştırmaların farklı hücre ölümü formlarını da içerecek şekilde genişletilmesi ve regülasyonunu sağlayan genetik ve epigenetik süreçlerin aydınlatılması; bu fenomenin koruyucu olarak indüklenbilmesi ya da inhibe edilmesini sağlayan terapötik yaklaşımlara ulaşabilmek için kritik önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ.* 2018; 25(3): 486-541. doi: 10.1038/s41418-017-0012-4.
2. Tang HL, Yuen KL, Tang HM, et al. Reversibility of apoptosis in cancer cells. *Br J Cancer.* 2009; 100(1):118-122. doi:10.1038/sj.bjc.6604802.
3. Tang HL, Tang HM, Mak KH, et al. Cell survival, DNA damage, and oncogenic transformation after a transient and reversible apoptotic response. *Mol Biol Cell.* 2012; 23(12): 2240-2252. doi:10.1091/mbc.E11-11-0926.
4. Kerr JE, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer.* 1972; 26(4): 239-257. doi:10.1038/bjc.1972.33.
5. D'Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol Int.* 2019; 43(6): 582-592. doi: 10.1002/cbin.11137.
6. Tang HM, Tang HL. Anastasis: recovery from the brink of cell death. *R Soc Open Sci.* 2018; 5(9): 180442. Published 2018 Sep 19. doi:10.1098/rsos.180442.
7. Tang HL, Tang HM, Hardwick JM, et al. Strategies for tracking anastasis, a cell survival phenomenon that reverses apoptosis. *J Vis Exp.* 2015; (96): 51964. Published 2015 Feb 16. doi:10.3791/51964
8. Tang HM, Talbot CC Jr, Fung MC, et al. Molecular signature of anastasis for reversal of apoptosis. *F1000Res.* 2017; 6:43. Published 2017 Jan 13. doi:10.12688/f1000research.10568.2.
9. Dhuriya YK, Sharma D. Necroptosis: a regulated inflammatory mode of cell death. *J Neuroinflammation.* 2018; 15(1): 199. Published 2018 Jul 6. doi:10.1186/s12974-018-1235-0.
10. Galluzzi L, Kepp O, Chan FK, Kroemer G. Necroptosis: Mechanisms and Relevance to Disease. *Annu Rev Pathol.* 2017; 12:103-130. doi:10.1146/annurev-pathol-052016-100247.
11. Gong YN, Guy C, Olauson H, et al. ESCRT-III Acts Downstream of MLKL to Regulate Necroptotic Cell Death and Its Consequences. *Cell.* 2017; 169(2): 286-300.e16. doi:10.1016/j.cell.2017.03.020.
12. Gong YN, Crawford JC, Heckmann BL, et al. To the edge of cell death and back. *FEBS J.* 2019; 286(3): 430-440. doi:10.1111/febs.14714.
13. Shi J, Gao W, Shao F. Pyroptosis: Gasdermin-Mediated Programmed Necrotic Cell Death. *Trends Biochem Sci.* 2017; 42(4): 245-254. doi: 10.1016/j.tibs.2016.10.004. Epub 2016 Dec 5. PMID: 27932073.
14. Yu P, Zhang X, Liu N, et al. Pyroptosis: mechanisms and diseases. *Signal Transduct Target Ther.* 2021; 6(1):128. doi: 10.1038/s41392-021-00507-5.
15. Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2021; 22(4): 266-282. doi: 10.1038/s41580-020-00324-8.
16. Xie Y, Hou W, Song X, et al. Ferroptosis: process and function. *Cell Death Differ.* 2016; 23(3): 369-379. doi:10.1038/cdd.2015.158.
17. Tang HM, Tang HL. Cell recovery by reversal of ferroptosis. *Biol Open.* 2019; 8(6): bio043182. Published 2019 Jun 11. doi:10.1242/bio.043182.
18. Inceboz M, Goker Bagca B, Caner A, et al. Anastasis in Glioblastoma, Brain Cancer Stem, and Brain Stem Cells. *JBACHS.* 2021; 5(1): 14-21.