

Bazı Protozoon Enfeksiyonlarda Apoptozis

Abdullah NC Alparslan YILDIRIM Ahmet YAVUZ Önder DÜZLÜ
Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRK YE

Özet: Fizyolojik ya da programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanan apoptozis, Yunanca'da apo(=ayrı) ve ptosis (=dü en) kelimelerinin birle tirilmesiyle oluşu mu sonbaharda yaprak dökümü anlamına gelmektedir. Apoptozis, ilk kez 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie tarafından "fizyolojik hücre ölümü" olarak tanımlanmıştır. Apoptozis mekanizması, uyarana ve hücre tipine göre farklılıklar göstermektedir. Apoptozu etkileyen uyarıların bazıları u ekilde sıralanabilir: büyüme faktörlerinin geri çekilmesi, sitokinler, hücre içi kalsiyum miktarındaki artış, tümör nekroz faktör (TNF), transforming growth factor (TGF- β), Fas/FasL sisteminin aktive olması, DNA hasarı nedeniyle bir tümör süpresör gen olan p53'ün aktive olması, virus, bakteri, parazit ve mantar gibi patojenler ile glukokortikoidlerdir. Apoptozun regülasyonu Bcl-2/Bax gen ailesi ile sağlanır. Bu ailenin 20 üyesi tanımlanmıştır; bunlardan Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Boo ve Mcl-1 gibi bazıları apoptoz inhibitörü iken, bazıları ise apoptoz aktivatörü ve proapoptotik genlerdir. Parazitolojide hücre içi zorunlu protozoon parazitlerin hayatlarını devam ettirme amacı ile konak hücreyi ya amaya zorlayarak kısmen kendi ya am döngüsünün de devamını sağlarlar. Protozoon parazitler buldukları konak hücrenin fizyolojisine göre farklı sinyal yollarını etkileyerek apoptozisi engellerler.

Anahtar Kelimeler: Apoptozis, protozoon enfeksiyonlar

Apoptosis in Some Protozoon Infections

Summary: Physiological or programmed cell death, known as apoptosis, is derived from the Greek words 'apo' (meaning to separate) and ptosis (meaning falling) and therefore means defoliation in autumn. It was first defined in 1972 by Kerr, Wyllie and Currie as "physiological cell death". The mechanism of apoptosis shows variations according to the stimuli and cell types. Apoptotic stimuli that affect some of the following can be listed as the growth factor withdrawal, cytokines, intracellular calcium increases in the quantity of tumor necrosis factor (TNF), transforming growth factor (TGF- β), activation of Fas/FasL system, activation of a tumor suppressor gene p53 due to DNA damage, virus, bacteria, parasites, fungal pathogens and glucocorticoids. Apoptosis is regulated by Bcl-2/Bax gene family. Twenty members of this family have been identified, some of these are inhibitor of apoptosis including Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Boo and MCL-1, while others are apoptotic activator and proapoptotic gene. In parasitology, to sustain parasites, obligatory intracellular protozoon parasites force the host cell to live its own life cycle thereby sustaining in part its own. Protozoon parasites inhibit apoptosis by affecting signal pathways according to their host cell's physiology.

Key Words: Apoptosis, protozoon infections

Giriş

Fizyolojik ya da programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanan apoptozis, Yunanca'da apo (=ayrı) ve ptosis (=dü en) kelimelerinin birle tirilmesiyle oluşu mu sonbaharda yaprak dökümü anlamına gelmektedir. Apoptozis ile ilgili ilk bilgiler, 1885'te Fleming tarafından ileri sürülen kromatoliz kavramı ile başlamıştır ve kromatoliz terimi sonraki yıllarda özellikle embriyologlar tarafından sıkça kullanılmıştır. Ancak 1950'li yılların sonlarında lizozomların ve 1960'lı yıllarda serbest radikallerin ke fedilmesi ile hücre intiharı kavramı kullanılmaya başlanmıştır ve 1970'li yıllarda da apoptozis ya da programlı hücre ölümü kavramı ortaya çıkmıştır. Apoptozis ile ilgili ilk çalışmaları 1972'de yapılmıştır (42). Daha sonra 1984'de apoptozisde görülen DNA kırıklarının jel elektroforezindeki karakteristik merdiven (ladder) kalıbı gösterilmiştir (71). Takiben 1990'lı yılların ikinci yarısında apoptozis ile

ilgili çok sayıda ara tırma yapılmıştır ve apoptozisin oluşu masında rol oynayan kaspaz (caspase) aktivasyonu, apoptotik hücrelerin fagositozu ve mitokondriyal membran geçirgenliği indeki değişiklikler tarif edilmiştir (51). Fizyolojik hücre ölümü olarak da tarif edilen apoptozis, patolojik hücre ölümü olan ve ATP miktarının azalması, hücre homeostazının hızla bozulması, inflamasyon yanıtının geli tmesi nekrozdan tamamen farklı olup; yangı olmaksızın hücrelerin kendilerini yok ettikleri, RNA ile protein sentezi ve enerjiye gereksinim duyan ve organizmada homeostazı koruyan, genlerle düzenlenen programlı bir olaydır. Apoptozis ile nekrozun özellikleri karşılaştırılarak Tablo 1'de gösterilmiştir (39).

Hücrelerin yaşam süreleri hücre tipine göre değişmektedir. Ba ırsak hücreleri 3-5 gün, epidermal hücreler 20-25 gün, eritrositler ise 120 gün kadar yaşayabilirken, miyositler veya nöronlar ömür boyu yaşarlar (67). Miyositlerin veya nöronların yaklaşık %10-15'i ömrün sonuna doğru kaybedilmektedir. Zamanı gelince ölen bu hücreler, daha önceden

Tablo 1. Nekroz ve apoptozisin özellikleri

Özellik	Nekroz	Apoptozis
Hücre Boyutu	İnce, geni leme	Büzülme, küçülme
Nükleus	Pino, karyoreksis, karyolizis	Fragmentasyon
Hücre membranı	Bütünlüğü bozulmuş parçalanmış	Moleküler de i iklikler var, parçalanma yok
Hücre içeriği	Enzimatik sindirim, organel bozukluğu	Sitoplazmada yoğunlaşma, korunmuş organeller
DNA kırık modeli	Düzensiz rastgele kırıklar ekinde	185 baz çiftlik kırıklar ekinde "ip merdiven" görünümünde
Enerji gereksinimi	Yok	ATP'ye ba lı
Enlasyon	Sık	Yok
Fizyolojik ve patolojik rol	Patolojik	Sıklıkla fizyolojik, bazen patolojik

programlanmış ekinde ölümler ("programmed cell death"). Ölümler fizyolojik ortamlarda meydana geldiği için fizyolojik hücre ölümü ("physiological cell death") olarak da adlandırılır. Ayrıca, bir ekinde DNA'sı hasar görmüş (virüs etkisi veya çevresel nedenlerle) hücreler organizmanın zarar görmemesi ve organizmanın yararları için kendilerini öldürürler ("hücre intiharı veya cell suicide"). Doku homeostazisi için (örneğin yaralanma iyileşmesi veya ba ırsak hücrelerinin kendilerini yenilemelerinde ("turnover") olduğu gibi) hücreler ortamdaki ölümlerle kaybolurlar ("cell deletion"). Bu kavramlar apoptozis (efferycytosis) ile eş anlamlı olarak kullanılabilen ve literatürde yer alan ifadelerdir (3, 67).

1. Apoptoziste Rol Oynayan Mekanizmalar

Yapılan çalışmalar göstermiştir ki; transmembranik sinyal iletimi, büyüme faktörleri ve hormonlar gibi hücre ölüm mekanizmalarını baskılayan faktörlerin ortamdaki çekilmesi sonucunda apoptozis gerçekleşmektedir. Ayrıca tümör nekroz faktör reseptörü (TNFR) gibi plazma membran reseptörlerinin aktivasyonu ya da düşük dozda çe itli zedeleyici ajanların ve glikokortikoidlerin intraselüler sinyal iletimi ile apoptoziste görevli proteinlerin sentezinin artırılması da apoptozis oluşumuna katkı sağlar. Apoptozisten sorumlu mekanizmaların başında kaspaz enzim ailesinin aktivasyonu gelmektedir. "interleukin converting enzim (ICE)" olarak da adlandırılan kaspazlar, endonükleazları aktive ederek

DNA sarmalına ve proteaz etkisiyle doğrudan sitoplazmadaki proteinlere etki ederek morfolojik de i ikliklerin ortaya çıkmasına yol açarlar. Ayrıca apoptoziste Bcl-2 gen ailesi, p53 geni ve Fas (CD95) geni gibi çe itli genlerin rolleri de vardır (40).

Programlı hücre ölümünün moleküler mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte hücrelerin genetik olarak belleklerinde var olan intihar programı; çe itli sinyallerle, patofizyolojik koşullarla ve oksidatif stres gibi olaylarla aktive olarak başlar, uyarana ve hücre tipine göre de farklılıklar gösterir. Apoptozisi etkileyen hücre içi uyarılar; büyüme faktörlerinin geri çekilmesi, sitokinler, hücre içi kalsiyum miktarındaki artış, tümör nekroz faktör (TNF), TGF- β (Transforming Growth Factor), Fas/FasL sisteminin aktive olması, DNA hasarı nedeniyle bir tümör süpresör gen olan p53'ün aktive olması, virus, bakteri, parazit ve mantar gibi patojenler ve glukokortikoidlerdir. Bunlardan özellikle protoonkogenlerin (c-myc gibi) çoğunun apoptozisin regülasyonunda yer aldığı kanıtlanmıştır (67, 73). Ayrıca hipertermi, radyasyon, sitotoksik antikanser ilaçları ve hipoksi gibi nekroz oluşurabilen etkenler de hafif dozlarda apoptozis meydana getirirler. Apoptoziste hücre ölümü çevreye rahatsızlık vermeksizin gelişse de bazen apoptozis, dolaylı olarak çevre dokuda nekrozu başlatılabilir ya da tam tersi nekroz apoptozis gelişmesine yol açabilir (67).

Apoptozis, öncelikle kaspazları aktive eden birbirinden farklı ancak sonuçta birbiriyle birleşen "Ekstrensik=ölüm reseptörleri ile başlatılan" yol ve "Entrensik=mitokondrial" yoldan oluşan "Ba lanç Fazı" adı verilen bir dönem ile başlar. Daha sonra enzimlerin hücre ölümüne neden olduğu "Uygulama Fazı" denilen a ama ile sonlanır (39).

2. Apoptozisin Regülasyonu ve A amaları

2.1. Regülasyon

Apoptozis, immunolojik olarak sessiz ölüm gösteren hücreler tarafından düzenlenen kompleks bir olaydır. Apoptozis, kaspaz-8 (caspase-8)'in Fas veya TNFR (ölüm reseptörleri) üzerine ba lantısının sırasıyla güçlenmesini ve aktivasyonunu uyararak FasL veya TNF- gibi ekstrinsik faktörlerin stimülasyonu ile ba latılabilir. Kaspaz-8, öldürücü caspase olan ve multiple proteinleri bölüp bu ekilde hücrenin parçalanmasına yol açan Kaspaz -3'ü aktive eder. Benzer ekilde DNA hasarı gibi intrinsik stimülasyon da Kaspaz -3'ün aktivasyonuna yol açar. Ancak, Kaspaz -8'in yerine kullanılabilen intrinsik stimülasyon, mitokondriden cytochrome c'nin salınımını ve bunu takiben Kaspaz -9'un aktivasyonunu ba latır. Kaspaz -9 apoptozise yol açan caspase-3'ü aktive eder. Sitokrom-c salınımı anti-apoptotik proteinler (örn; Bcl-2, Bcl-xL), multidomain pro-apoptotik proteinler (örn; Bax ve Bak) ve BH3-baskın yalnızca pro-apoptotik proteinler (örn; Bim, Bid ve Bad) olmak üzere 3 gruptan olu an Bcl-2 ailesindeki proteinler tarafından yönetilir. İğniç olarak, Kaspaz -8 aktivasyonu ayrıca Bid'in tBid'e ayrı masını takiben de sitokrom-c salınımına yol açabilir. Sitokrom-c salınımıyla gerçekte en ölüm, reseptör ba lantısının apoptotik sinyali ba lattı ını gösterir (25, 26).

Apoptozis multiple regülötör enzimler tarafından kontrol altında tutulur. Apoptozdan kaçı , NF-kB (nüklear faktör kapa-B) ve PI-3K(phosphoinositide 3-kinases)'in aktivasyonuna ba lıdır. Kaspaz transkripsiyon faktörleri, NF-kB ve İkB'nin ba lanmasına ba lı olarak sitosolde belirli bir düzeyde bulunur. İk kinaz (İKK) aktive oldu unda ve İkB'yi fosforilize edip ayrı ım için onu hedef haline getirdi inde NF-kB aktivasyonu görülür. Daha sonra İkB'nin ayrı ımını takiben NF-kB, çekirde e do ru yer de i tirir ve c-Flip (kaspaz-8 aktivasyonunu inhibe eder), c-IAP1 ve c-IAP2 (kaspazları engeller) ile Bfl-1/A1 (sitokrom c salınımını önler) gibi antiapoptotik genleri kapsayan multiple genlerin transkripsiyonunu indükler. Hücre yüzeyi reseptörleri (sıklıkla büyüme faktörü reseptörleri) yo unla ır ve PI3K'ün ligandlarına ba lanmasını aktive eder. Bir kez aktive olan PI3K, Akt/PKB'yi fosforolize eder ve bu durum sonra pro-apoptotik Bcl-2 proteini olan Bad'ı ve pro-apoptotik genlerin transkripsiyonunun engellenmesi ile sonuçlanan fork head transkripsiyon faktörlerini inaktive eder. Akt/PKB, ayrıca NF-kB yanıtının aktivasyonu ile sonuçlanan İKK'yı da aktive eder. Bu ekilde enzimler hem NF-kB aracılığıyla hücreyi apoptozdan kurtarır hem de PI-3K yardımıyla hücre yüzey re-

septörlerini artırarak hücreyi apoptoza yöneltir (25, 26) (ekil 1).

2.2. A amaları

2.2.1. Ba langıç Fazı

2.2.1.1. Ekstrensik Yol

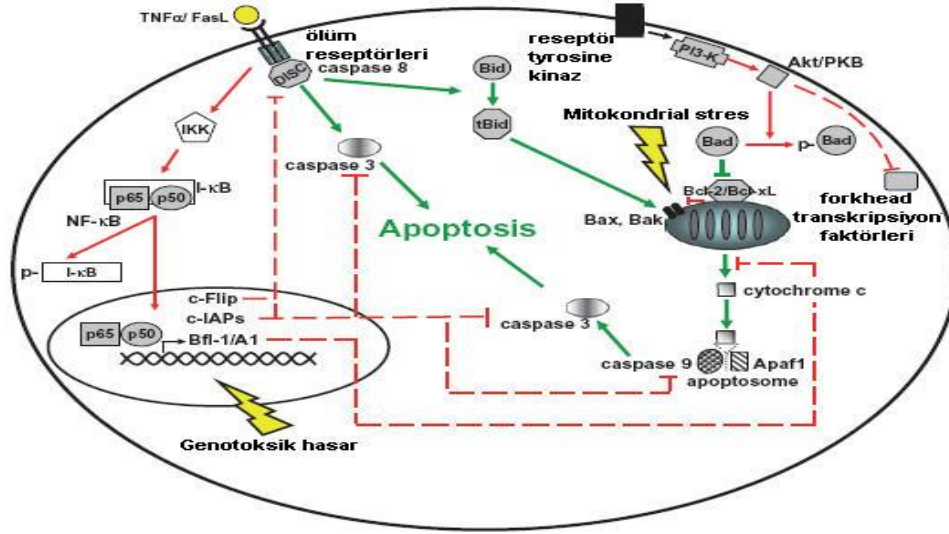
Bu yolda ölüm reseptörleri rol alırlar. Ölüm reseptörleri, TNF ailesinden olan reseptörlerdir. Bunlardan Tip 1 TNF reseptörü ve Fas (CD95) olarak bilinen protein en önemlilerindedir. Bunlarda protein-protein etkilemelerine katılan sitoplazmik ölüm bölgeleri bulunur ve dı ligandlarla çapraz ba lanma sonucu multimerize olurlar. Bu durum, çok sayıda inaktif kaspaz-8 moleküllerini birbirine yakla tıran adaptör proteinler için ba lanma yerlerini olu masına yol açar. Olu an ön kaspazların dü ük düzeydeki enzimatik aktivasyonu, sonuçta toplanan gruptan bir prteinin bölünmesine ve aktivasyonuna neden olur ve böylece kaspazlar tetiklenir (19).

2.2.1.2. Entrensik Yol

Entrensik yolda ölüm reseptörleri rol almazlar ve bu yolun temelinde mitokondrial geçirgenli i düzenleyen pro-apoptotik ve anti-apoptotik moleküllerin dengesi vardır. Bu a amada mitokondrial geçirgenlik artar ve pro-apoptotik moleküller hücre sitoplazmasına salınır. Apoptozis olayının inhibisyonunda görevli en önemli protein, mitokondrial membranın dı yüzeyinde yerle im gösteren Bcl-2 proteindir. Apoptozisin düzenlenmesinde Bcl-2 ailesinin yirmiden fazla proteini görevlidir. Bunlardan Bcl-2 ve Bcl-x iki ana anti-apoptotik proteindir. Hücreler ya amsal sinyallerini kaybettiklerinde veya herhangi bir olumsuzlukla kar ıla tıklarında, mitokondrial membrandan Bcl-2 ve Bcl-x yok olurlar ve bunlar yerlerini ailenin Bak, Bax ve Bim gibi pro-apoptotik proteinlerine bırakırlar. Buna ba lı olarak mitokondri membranında Bcl-2/Bax oranının azalmasıyla membran geçirgenli i artar ve sitokrom-c mitokondriden sitoplazmaya geçer. Böylece normalde Bcl-2'ye ba lı bir protein olan Apaf-1 (apoptozis aktive edici faktör-1) de Bcl-2'den ayrılıp sitoplazmaya salınır. Her iki protein sitoplazmadaki kaspaz ile birle erek *Apoptozom* adı verilen yapıyı ve dolayısıyla kaspaz-9 aktivasyonunu gerçekte tirirler (20).

2.2.2. Uygulama Fazı

Proteolitik kaspazlar, sistein proteazlar olup aspartik asitten sonraki peptid ba ını kırarlar. Uygulama fazını gerçekte tiren bu enzimler, canlı türleri arasında büyük oranda korunmu tur.



ekil 1. Apoptozisin regulasyonu: Apoptozis bir kompleksdir ve immunolojik olarak sessiz ölüm gösteren hücrelerce düzenlenen bir olaydır. Apoptozis, kaspaz-8'in Fas veya TNFR (ölüm reseptörleri) üzerine ba lantısının sırasıyla güçlenmesini ve aktivasyonunu indükleyen FasL veya TNF- gibi ekstrinsik faktörlerin stimülasyonu ile başlatılabilir. Kaspaz 8, öldürücü kaspaz olan ve multiple proteinleri bölüp bu şekilde hücrenin parçalanmasına yol açan kaspaz 3'ü aktive eder. Benzer şekilde DNA hasarı gibi intrinsik stimülasyon da kaspaz 3'ün aktivasyonuna yol açar. Ancak, kaspaz 8'in yerine kullanılabilen intrinsik stimülasyon mitokondriden sitokrom c'nin salınımını ve kaspaz 9'un aktivasyonunu başlatır. Kaspaz 9 apoptozise yol açan kaspaz 3'ü aktive eder. Sitokrom c salınımı anti-apoptotik proteinler (örn; Bcl-2, Bcl-xL), multidomain pro-apoptotik proteinler (örn; Bax ve Bak) ve BH3-baskın yalnızca pro-apoptotik proteinler (örn; Bim, Bid ve Bad) olmak üzere 3 gruptan oluşan Bcl-2 ailesindeki proteinler tarafından yönetilir. Kaspaz 8 aktivasyonu ayrıca Bid'in tBid'e ayrılmasını takiben de sitokrom c salınımına yol açabilir ve bu olay sitokrom c salınımının indüklenmesi ile ölüm reseptör ba lantısının apoptotik sinyali başlatmasını açıklar. Apoptozis multiple regülatörler tarafından kontrol altında tutulur. Transkripsiyon faktörü NF-κB IκB'nin başlanmasıyla başlatılarak sitozolde belirli bir düzeyde bulunur. İlk kinase (IKK) aktive olduğunda ve IκB'yi fosforilize edip ayrılmasını hedef haline getirdiğinde NF-κB aktivasyonu görülür. IκB ayrılmasını takiben, NF-κB çekirdeğe doğru yer değiştirir ve c-Flip (kaspaz 8 aktivasyonunu inhibe eder), c-IAP1 ve 2 (kaspazları engeller) ve Bfl-1/A1 (cytochrome c salınımını önler) gibi antiapoptotik genleri kapsayan multiple genlerin transkripsiyonunu indükler. Hücre yüzeyi reseptörleri (Sıklıkla büyüme faktörü reseptörleri) bağlanır ve PI3K'ün ligandlarına başlanmasıyla aktive eder. Bir kez aktive olan PI3K, Akt/PKB'yi fosforilize eder ve bu durum sonra pro-apoptotik Bcl-2 proteinini olan Bad'ı ve pro-apoptotik genlerin transkripsiyonunun engellenmesi ile sonuçlanan forkhead transkripsiyon faktörlerini inaktive eder. Akt/PKB, ayrıca NF-κB yanıtının aktivasyonu ile sonuçlanan IKK'yi aktive eder.

Kaspaz (caspase) terimindeki "c" harfi bir aktif bölge sistein (cysteine)'i temsil ederken, "aspaz" (aspase) aspartik asit artıklarından hemen sonra bölünebilir yeteneğini tanımlamaktadır. Kaspazlar, başlatıcı (kaspaz-2, kaspaz-8, kaspaz-9 ve kaspaz-10), uygulayıcı (kaspaz-3, kaspaz-6 ve kaspaz-7) ve yangı (kaspaz-1, kaspaz-4, kaspaz-5, kaspaz-11, kaspaz-12, kaspaz-13 ve kaspaz-14) kaspazları diye gruplandırılabilir (Tablo 2) (39). Apoptozis olayında aktive oldukları sıraya göre başlatıcı ve uygulayıcı olmak üzere iki temel gruba ayrılırlar (25). Başlatıcı olanlardan kaspaz-8 ve kaspaz-9; uygulayıcı olanlardan ise kaspaz-3 ve kaspaz-6 önemlidir (60).

Kaspazlar başlangıçta inaktif proenzim halinde bulunurlar. Etkin olabilmeleri için aktive edici bir bölünme işleminden geçmeleri gerekir. Bölünme bölgeleri diğer kaspazlar tarafından veya

otokatalitik olarak hidrolize edilebilir. Başlatıcı kaspaz bir kez aktive olduktan sonra diğer kaspazların hızlı ve sıralı aktivasyonu ile ölüm programı başlatılır (45). Uygulayıcı kaspazlar hücre iskeleti ve nükleer matrix proteinlerini parçalayarak hücre iskeletinin bozulmasına ve nükleus yıkımına yol açarlar. Nükleus içerisinde kaspazlar; transkripsiyon, DNA replikasyonu ve DNA onarımında rol alan proteinleri parçalarlar. Bunlardan özellikle kaspaz-3 karakteristik internükleozomal DNA bölünmesine yol açan sitoplazmik bir DNAaz enzimi ni aktive eder (14).

Hücrelerde ölüm mekanizması nasıl olursa olsun, ölü hücrelerin ortadan kaldırılması gereklidir. Gereksiz nekroz ve gerekse apoptozis yolu ile ölen hücreler fagositoz (efferyctosis) ile ortadan kaldırılırlar. TNF- ve oksidant-zengin bir yangı bölgesinde makrofajların apoptotic hücrelerin ortadan kaldırılmasında daha az etkiye sahip oldukları bildirilmiştir

Tablo 2. Kaspazların i levlerine göre sınıflandırılması

Ba latıcı Kaspazlar	Uygulayıcı Kaspazlar	Enflamatuvar Kaspazlar
Kaspaz-2 (ICH-1)	Kaspaz-3 (CPP32, apopain, yama)	Kaspaz-1 (ICE)
Kaspaz-8 (FLICE, Mch5, MACH)	Kaspaz-6 (Mch-2)	Kaspaz-4 (ICH-2, TX; ICE _{re11i})
Kaspaz-9 (Mch6, ICE-LAP6)	Kaspaz-7 (ICE-LAP3, Mch3, CMH-1)	Kaspaz-5 (ICE _{re11i} , TY)
Kaspaz-10 (Mch-4)		Kaspaz-11 (murine)
		Kaspaz-12
		Kaspaz-13 (ERICE)
		Kaspaz-14 (MICE)

(52) olmakla beraber apoptozis olayında hücre zarı de i imleri, kom u hücrelerin ölü hücreyi fagosite etmeleri için gerekli tüm uyarınları verecek ekilde olu maktadır. Apoptotik hücrede olu an önemli de i ikliklerden biri, normal olarak plazma membranının iç yüzünde bulunan fosfatidilserinin erken evrede membranın dı yüzüne transloke (çıkması) olmasıdır. Apoptozis sırasında ya ATP translokaz yetmezli i ya da di er enzim sisteminin aktivasyonu sonucu fosfatidilserin dı yüzey tabakaya yerle ir. Fagositik hücrelerin vitronektin ve lektin özelli indeki reseptörleri fosfatidilserin ile ba lanır ve fagositozu uyarır. Bu mekanizma, apoptotik hücrelerin kom u hücreler ve makrofajlar tarafından tanınmasını sa lar. Böylece apoptoziste izlenen hücre zarı de i iklikleri, apoptotik hücre zarındaki moleküller aracılı i ile makrofajlara ve çevre hücrelere iletilerek hücrenin fagositozu gerçekte ir. Fagositoz sonrasında, apoptozise u ramı doku çevre parankimal hücrelerin rejenerasyonu ile eski haline kavu ur (26, 52).

Yukarıda tüm detayları ile anlatılma a çalı lıan apoptozis ve onu takip eden fagositoz kısaca u ekilde özetlenebilir: i-apoptozisin indüksiyonu, ii-hücre yüzeyinde ölüm reseptörlerinin uyarılması, iii-sitokrom-c'nin salınımı, iv-apoptozom olu umu (sitokrom-c + Apaf 1 + Kaspaz-9), v-mitokondrial transmembran potansiyelinin de i mesi, vi-kaspazların aktivasyonu, vii-fosfatidilserinin hücre zarının iç yüzeyinden dı yüzeyine çıkması, viii-DNAaz aktivasyonu sonucunda internükleozomal DNA fragmentasyonu, ix-yapısal proteinlerin yıkılmasıyla apoptozise özgü morfolojik de i ikliklerin olu umu, x-makrofajların ölü hücreleri tanınması ve fagositozudur. Sonuçta tüm canlılarda, hücre homeostazisinin sa lanması bakımından apoptozis çok önemli bir mekanizmadır (39).

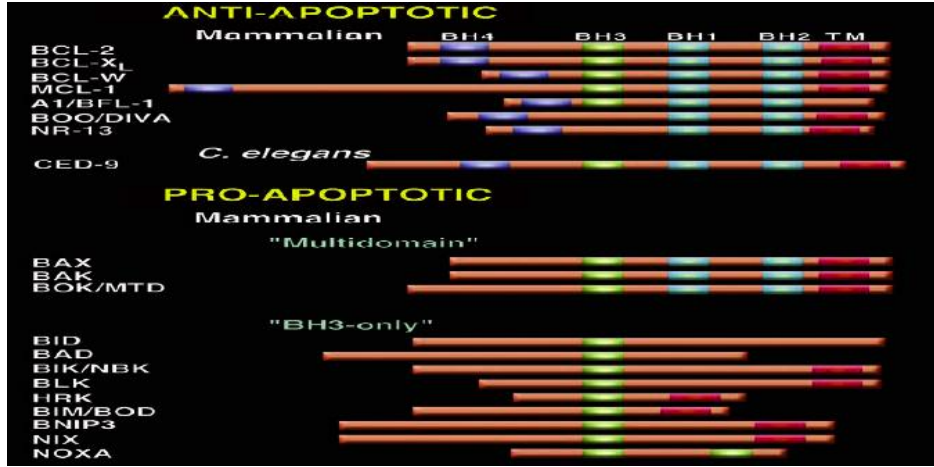
3. Apoptozis nhibitörleri

Apoptozun regülasyonu Bcl-2/Bax gen ailesi ile sa lanır. Bu ailenin 20 üyesi tanımlanmı tır; bunlardan bazıları Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Boo, Mcl-1 gibi apoptoz inhibitörüdür (antiapoptotik), bazıları ise apoptoz aktivatörüdür ve proapoptotik genlerdir. Proapoptotik genler: Bax (Bax, Bak ve Bok) ve BH3 (Bik, Blk, Hrk, BNIP3, Bad, Bid gibi) olmak üzere iki alt aileye sahiptir. Bcl-2/Bax gen ailesinin ürünleri, mitokondiri ve çekirdek zarlarının yanısıra endoplazmik retikulum zarının üzerinde de yer alırlar ve homodimer ya da heterodimerler ekilde kompleks olu turarak çalı ırlar. Örne in; Bcl-2 nin Bax ile olan etkile iminde Bcl-2 nin oranının daha yüksek olması hücrenin ya amını sürdürmesini sa larken, Bax'ın daha fazla olması durumunda hücre ölüme gitmektedir (ekil 2).

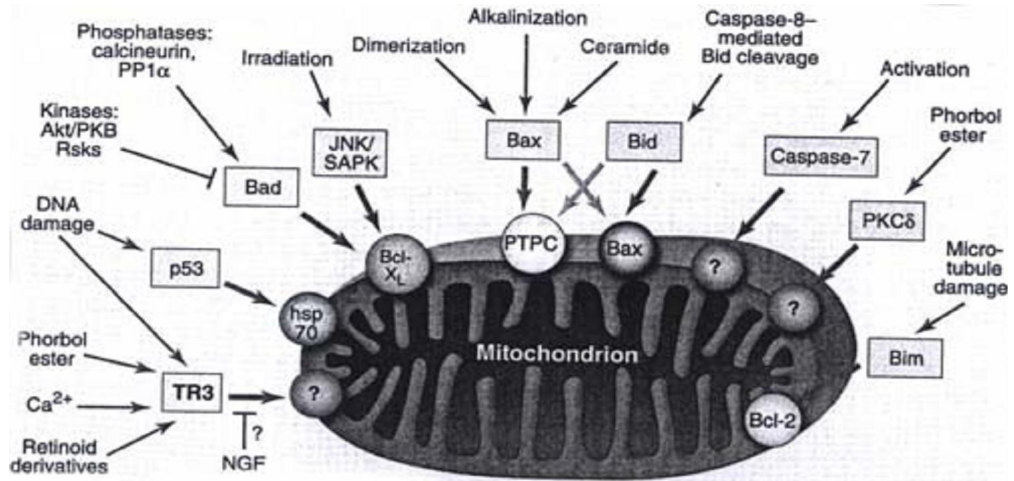
Ayrıca insanlarda apoptozisin düzenlenmesi, p53 ile ba layan ve kaspazlara kadar devam eden bir süreçtir. Bir tümör süpresör gen olarak çalı an p53, mutasyona u radı ı ya da bulunmadı ı zaman hücre ya amı uzar. Genotoksik olaylarla olu an hücre hasarı, bir transkripsiyon regülatör geni olan p53'ü aktive eder. p53 protein ürünü, DNA'ya do rudan ba lanarak hasarı tanıdıktan sonra, ya G1'de hücre siklusunun durmasını indükleyerek tamir için gerekli zamanı kazanır ya da hasar fazlaysa apoptozise yönlendirir. Ayrıca p53'ün Bax/Bax, Bax/Bcl-2, Bcl-2/Bcl-2 gruplarının oranlarını düzenledi i dü ünülmektedir (67) (ekil 3).

4. Bazı Protozoon Enfeksiyonlarda Apoptozis

Birçok bakteriyel, viral ve otoimmün hastalıklarda oldu u gibi protozoon enfeksiyonlarda da apoptozis vardır ve önemlidir. Özellikle hücre içi zorunlu parazit protozoonlar, hayat sikluslarını ve



ekil 2. Bcl-2/Bax aile üyelerinin sınıflandırılması



ekil 3. Apoptosisi inhibe eden Bax ailesi ve aktivasyon yolları

bu sayede neslini sürdürmek amacıyla konak hücrelerin apoptoz mekanizmalarını devre dışı bırakırlar. Bu hücre içi parazitler, buldukları konak hücrelerin apoptoz mekanizmalarını devre dışı bırakarak hücrenin yaşam süresini uzatırlar. Böylece konak hücre içerisinde gelişim safhalarını tamamlayabilirler. Bazı protozoon parazitler (*Cryptosporidium parvum*, *Leishmania* spp., *Trypanosoma cruzi*, *Theileria* spp, *Toxoplasma gondii* ve *Plasmodium* spp.) tarafından apoptozisin yönetilmesi üzerine yapılan çalışmalarda ilginç bilgilere ulaşılmıştır (9, 36).

4.1. Cryptosporidiosis

Cryptosporidium parvum ile enfekte hücrelerde, hücre yüzeyindeki FasL ve fas'ın seviyelerinde artış olur. Bu artış, enfekte hücrelerin apoptozis ile korunmasında sadece etrafındaki sağlam hücreler belirleyicidir (12). Bu konu üzerinde yapılan bir araştırmada (13) NF- κ B'nin *C. parvum*'a bağlı olarak aktif hale getirilmesinin apoptozisi engellediği tespit edilmiştir. İlgilili bir şekilde, *C. parvum* ile enfekte hücreler, invazyondan hemen sonra ve sonraki geç safhalarda apoptozisin bazı işaretlerini gösterirler. Buna karşın, enfekte hücrelerde çoğu

ma sırasında apoptotik yanıt belirgin bir şekilde gözlemlenmektedir (48, 53). Hastalının erken evrelerinde esnasında apoptozisin kapsamı geniş olmakla beraber, konak hücrelerinde apoptozisin rolünün, esasen hastalının son döneminde etkili olduğu düşünülmüştür. Bu gözlemlerin ışığında, *C. parvum* enfeksiyonu, replikasyonunu sağlaması için gerekli süreyi parazite kazandırmak amacıyla normal bir apoptotik yanıtı geçici olarak interfere eder. Replikasyonu takiben hücreden çıkmak için hazır hale geldiğinde parazit, apoptozisi tetikleyebilir veya hastalının erken evresinde başlatılan sürecin devam edebilmesi için hücreye izin verebilir (13). NF- κ B'nin aktivasyonunun, apoptozisin inhibe edilmesinde tek mekanizma olup olmadığının tespiti amacıyla (13) ve yine hangi enfekte hücrelerin apoptozise maruz kaldığının, enfekte hücrelerin neden hastalının daha geç safhalarında apoptozise uğradığının (53) saptanması amacıyla daha detaylı çalışmalara gereksinim bulunmaktadır.

4.2. Leishmaniosis

Leishmania donovani, büyüme faktörüne bağımlı apoptozisin inhibe edilerek konak hücre viabilitesinin artırılmasının anlatıldığı ilk parazittir (55). Makrofajların yaşam gücünün artırılması lipofosfolikana (LPG) dayandırıldığı halde (55), son yıllarda yapılan çalışmaları bunu destekleme konusunda yetersiz kalmıştır (2, 64). Hücrelerin *Leishmania infantum* promastigotlarına maruz kalması, parazitin yaşam alanı ve LPG'nin aktinomisinine indüklenmesiyle oluşan apoptozisi inhibe edebilmesi gibi tüm bu konular tek bir başlıkta ele alındığında; LPG'nin, protein kinaz C'yi engelleyerek DNA bağımlı apoptozisi inhibe edebileceği hipotezine ulaşılmıştır (47). Parazit promastigotlarının makrofajlarda apoptozisi inhibe eden çeşitli yolların (NF- κ B, PI3K ve p38 MAPK) aktivasyonunu tetiklediği tespit edilmiştir (63). Bununla birlikte, sadece PI3K'nin inhibisyonunun antiapoptotik fenotipin ortadan kaldırılmasıyla sonuçlandırıldığı görülmüştür (63). Promastigota maruz kalmanın etkisine zıt bir görüş olarak; Akarid ve ark. (2004), makrofajlardan derivate edilen kemik iliği enfeksiyonlarının büyüme faktörüne bağımlı apoptozisi, sitokrom-c salınımını ve kaspaz-3 aktivasyonunu geciktirdiğini rapor etmişlerdir (2). Promastigotlar tarafından PI3K'in aktivasyonu, parazit invazyonu ile tetiklenen ilk apoptotik yanıtı bastırabilmektedir. Hastalının olumsuz ve parazitin disseminatif formdan (promastigot) proliferatif forma (amastigot) farklılaşması üzerine, *Leishmania* türleri sitokrom c salınımını suprese ederek makrofaj apoptozisini engelleyebilmektedir. Enterasan olarak, *Leishmania* ile enfekte hücreler-

de fosfo-Bad seviyelerindeki artışa istinaden, sitokrom c salınımının inhibisyonunun Bcl-2 proteini ailesindeki manipulasyonlarla ilgili olduğu düşünülmüştür (63).

Leishmania türleri ilk olarak makrofajları enfekte etmekte iken, polimorfonükleer nötrofil granulositlerin (PMN) deneysel enfeksiyonun erken safhalarında görüldüğü bildirilmiştir (1, 69). Bu farklılaşma ve kısa ömürlü hücrelerin yaşam süreleri üzerine *Leishmania* promastigotlarının etkilerini araştıran Aga ve ark. (2002), *Leishmania* ile enfekte PMN'lerin enfeksiyonun erken safhasında bulunduğunu ve enfeksiyonun PMN apoptozisini 24 saat geciktirdiğini bildirmişlerdir (1). Bir diğer çalışmada enfekte makrofajlar tarafından ortamdaki apoptotik PMN'lerin temizlenmesini takiben *Leishmania major*'un artan bir şekilde replike olduğunu rapor edilmiştir (62). *Leishmania* türlerinin indüklemesi sonucu Fas ve FasL seviyelerinde meydana gelen artış, enfekte olmayan makrofaj ve nötrofillerdeki kaybı artırmaktadır (62). İçinç bir şekilde, Van Zandbergen ve ark. (2006) apoptotik promastigotların varlığının virulensle bağlantılı olduğunu saptamışlardır (70). Promastigot populasyonları tükenmiş aneksin V-pozitif parazitlerin (plazma membranının dış yüzeyinde fosfolipidlerin bulunan parazitler), apoptotik promastigotlarını muhafaza eden parazitlerle kıyaslandığında büyük miktarda virulens kaybettiği görülmüştür. Bundan yola çıkılarak bu apoptotik parazitlerin, fagositlerin etkisizleştirilmesi kapsayan *Leishmania* patojenik program içerisinde önemli bir rol oynadığı söylenebilir (70).

4.3. Trypanosomiasis

Trypanosoma cruzi tarafından apoptozisin inhibisyonu, kompleks bir mekanizmadan oluşmakla beraber diğer protozoon parazitlerin aksine mükemmel bir şekilde açıklanmıştır. Diğer protozoon parazitlerle yapılan çalışmalarda apoptozisin inhibisyonunda görev alan solüble faktörler tam olarak netleştirilememiştir. Bunun aksine *T. cruzi* enfeksiyonlarında antiapoptotik evrelerin oluşumuna iki proteinin katkı sağladığı tespit edilmiştir. Bunlardan biri olan transilidaz, konak sinir büyüme faktörüne (NGF) benzemektedir (16). Parazitten elde edilen nörotropik faktörler (PDNF), NGF reseptörü olan ve enfekte nöronlarda PI3K kaynaklı apoptozisin inhibisyonunu tetikleyen TrkA'ya bağlanır (15-18). Transilidaz/PDNF'in, Chagas hastalığı süresince nöronların enfekte olmasında önemli olduğu kabul edilirken, bir diğer solüble faktör olan cruzipain (CZ)'in katalitik etkisinin yokluğunda neonatal kardiyomyositi serum kaynaklı apoptozisten

korudu u bildirilmi tir (4). Cruzipain ile etkile mi hücrelerde antiapoptotik protein olan Bcl-2 seviyesi ve arjinin düzeyini azaltarak apoptozisi engelleyen bir enzim olan arjinazın seviyesinde artı görülmektedir (4, 27). Arjinaz seviyesindeki artı a ilaveten CZ, c-Jun N-terminal kinaz (JNK), p38 mitojen aktive protein kinaz (MAPK), ekstrselüler sinyal düzenleyici kinaz 1/2 (Erk 1/2) ve PI3K/Akt gibi çe itli sinyal yollarının aktivasyonu ili kilidir. Bütün bu yollar potansiyel olarak apoptozisi modüle etmekte iken, yalnızca PI3K/Akt ve Erk 1/2 *T. cruzi* ba ımlı apoptozisi ortadan kaldırmaktadır. MAPK/ERK kinaz 1 (MEK1) ve PI3K'nın her ikisi de proapoptotik protein olan Bad'ın inaktivasyonunda görev alırken, Erk 1/2'nin MEK1 ile aktivasyonu sonucu antiapoptotik protein olan Bcl-2 seviyesinde artı olmaktadır (5).

ntrensik apoptotik yollar, kardiyomiyosit ve nöronal apoptozisin önemli mediatörleri iken parazit enfeksiyonları sıklıkla ekstrinsik apoptotik yolları aktive eden bir immün yanıtla alakalıdır (29). *Trypanosoma cruzi* apoptozisin FasL/Fas interaksyonu ile ekstrinsik indüksiyonunu inhibe etmektedir (34, 57). FasL/Fas ile indüklenen apoptozis, trypomastigotların (disseminatif form) amastigotlara (replikatif form) farklıla masına ba lı olup hücre içerisinde amastigot sayılarının artmasını sa lamaktadır (57). Yapılan bir çalı mada *T. cruzi*'nin, FasL/Fas etkile imini takiben kaspaz-8 aktivasyonunu c-FLIP (kaspaz-8 inhibitörü)'in indirgenmesiyle inhibe etti i rapor edilmi tir (34).

4.4. Theileriosis

Theileria türleri tarafından apoptozisin inhibisyon mekanizması; NF- κ B (35, 44), JNK (49) ve protein kinaz A (PKA)'nın (33) aktivasyonu ili kilidir. *Theileria* türlerinin konak hücre proliferasyonunu indüklenmesi ve apoptozisi inhibe edebilme kabiliyeti, T ve B hücreleri ile makrofajların parazitler tarafından enfekte edilmesini takiben reverzible bir transformasyon ile ili kilidir. NF- κ B'nin apoptozisteki önemi ilk kez *T. parva* ile enfekte T hücrelerinin NF- κ B inhibitörleri ile tedavi edilmesiyle ortaya konulmu tur (35, 37). İginç bir ekilde NF- κ B'nin *T. parva* ile aktivasyonu, çe itli sinyal yollarının aktivasyonundan ziyade parazitin yüzeyine IKK takviyesi yapılmasından kaynaklanmaktadır (38). NF- κ B aktivasyonu; c-FLIP, c-IAP ve x-IAP gibi multiple ya amsal genlerin transkripsiyonunu artırmakta olup bu genler *Theileria* ile enfekte hücrelerde artı göstermektedir (44).

Hem *T. parva* hem de *T. annulata* enfeksiyonu, transkripsiyon faktör AP-1'in JNK ile aktivasyonu ile sonuçlanır ve c-Jun ekspresyonunda artı meydana gelir (7, 11, 23, 24, 28). JNK'nin, bir domi-

nant negatif mutant (49) veya farmakolojik bir inhibitör (50) tarafından inhibisyonunun *T. parva* ile enfekte B hücrelerinde apoptozisi tetikledi i bildirilmi tir. C-Jun'un inhibisyonu yalnızca antiapoptotik proteinler olan MCL-1 ve c-IAP'in seviyesinde azalmalara sebep olmakta ve antiparazitik ilaçlarla tedaviyi takiben hücreleri apoptozise kar ı a ırı duyarlı hale getirir (50). Ayrıca, multiple substratların JNK nedenli fosforilasyonu apoptozisin inhibisyonunda görev almaktadır.

NF- κ B ve JNK'ye ilaveten, son zamanlarda yapılan bir çalı mada *Theileria* türleri ile enfeksiyonu takiben B hücrelerinde meydana gelen apoptozisin inhibisyonunda PKA'nın da bir rol oynadı i tespit edilmi tir (32, 33). PI3K, *Theileria* ile enfekte lenfositlerde aktive oldu u halde, Akt/PKB substratı ile ilgili çeli kili sonuçlar ortaya çıkmı tir. Baumgartner ve ark. (2000) enfekte B hücrelerinde fosforile olmu Akt/PKB'yi saptayamadı (6). Fakat buna kar ın Heussler ve ark. (2001) PI3K aktivasyonunun, hem *T. parva* ile transforme olmu T hücrelerinde hem de *T. annulata* ile transforme olmu makrofajlarda Akt/PKB fosforilasyonu ile sonuçlandı ını bildirmi tir (36). Bu durum; B hücreleri, T hücreleri ve makrofajlar arasındaki sinyal yollarının farklılı ndan kaynaklanmaktadır. PI3K aktivasyonunun lenfosit proliferasyonunu indükledi i fakat apoptozisin inhibisyonunda ise görev almadı i rapor edilmi tir (6, 36). İginç olarak Guernon ve ark. (2006) PI3K'nın *T. annulata* ile transforme olmu B hücrelerinde Akt/PKB fosforilasyonunu indüklemekte ba arısız kaldı ını, fakat PKA inhibisyonunun apoptozisi indükledi ini tespit etmi lerdir (33).

Son yıllarda, Dessauge ve ark. (2005), *T. parva* enfeksiyonunun c-Myc düzeyini artırdı ını, degradasyonunu ise azalttı ını göstermi lerdir (21). *Theileria parva* ile enfekte B hücrelerinde, JAK2/STAT3 ve c-myc geninin transkripsiyonunda artı bulunmu tur. STAT3'e ba ımlı c-myc transkripsiyonunun *T. parva* ile enfekte B hücrelerinde meydana gelen apoptozisin inhibisyonundaki rolü, JAK2 inhibisyonunu takiben olu an apoptozisin indüksiyonu c-myc ekspresyonu ile engellendi i zaman do rulanmı olmaktadır (22). Bunun yanında enfeksiyonu takiben c-myc transkripsiyonunun indüklenmesinin, JNK ve NF- κ B aktivasyonunun apoptotik etkisinden sorumlu olabilece i ileri sürülmü tür (21).

4.5. Toxoplasmosis

Toxoplasma gondii ile enfekte hücreler, çok sayıda apoptotik stimulusla kar ı dirençlidir (30, 31, 58, 59). Enfekte hücreler, kaspaz-8, kaspaz-9 ve kaspaz-3'ün apoptozisin indüksiyonunu takiben

aktive edilmesinde ba arısız kalmaktadır. Bu hücrelerin kaspazları aktive etmesindeki ba arısızlı in altında yatan sebep enfekte hücrelerde gözlemlenen apoptotik duyarsızlıktır (8, 31, 59).

Toxoplasma gondii tarafından hem ekstrinsik hem de intrinsik yolların inhibisyonu, NF- κ B'nin aktivasyonu ile alakalıdır (59). Bu aktivasyon, hem konak IKK'sına hem de parazite ait kinaz aktivitesi (TgIKK) ile alakalı olup antiapoptotik genlerin transkripsiyonel olarak hücre yüzeyinde artması ile sonuçlanır (43, 54). NF- κ B ba ımlı immün yanıtın aktivasyonuna ilaveten, *in vitro* çalı malarda *T. gondii*'nin, apoptozomun direkt inhibisyonu ve sitokrom-c salınımının engellenmesi yoluyla kaspaz-9 aktivasyonunu inhibe etti i görülmü tür (41, 65). Sitokrom-c salınımının *T. gondii* tarafından inhibisyonu; pro-apoptotik Bad ve Bax proteinlerinin degradasyonu (8), Bfl-1 ve Bcl-2 proteinlerinin transkripsiyonundaki (54) ve Mcl-1 seviyesindeki (31) artı larla ba ıntılıdır. *Toxoplasma gondii* ile enfekte HeLa hücrelerinde, ultraviyole ı ı a maruz kalmayı takiben fosfo-JNK düzeyinde azalma görüldü ü tespit edilmi tir (8). Bu azalma, bu hücrelerdeki sitokrom-c salınımının indüklenmesinde gerekli apoptotik stimulusun transmisyonunu engelleyebilmektedir (8).

4.6. Malaria

Sivrisine in kan emmesini takiben *Plasmodium* sporozoitleri (disseminatif form) semptomatik eritrositer basamaktan önce hepatositlere girer ve burada geli ir (61). Sporozoitler karaci ere göç eder ve multiple hepatositlerin sitosolüne geçer (56, 61). Bu olay, parazitin son olarak yerle ece i, farklıla aca ı ve ço alaca ı son hepatosite invazyonunu kolayla tıran hepatosit büyüme faktörünün (HGF) salınımıyla sonuçlanır (10). HGF/Met sinyal yolu, PI3K aracılı ıyla apoptozisi inhibe eder (72). Bu inhibisyon, enfeksiyonu takiben PI3K inhibitörü ile tedavi edilen hücrelerde oldu u gibi *Plasmodium berghei* kaynaklı enfeksiyonun ba arısını artırmada önemlidir (46). PI3K, hepatositlerin enfekte olmasının erken safhalarında apoptozisin inhibisyonunda görev alıyor gibi görüldü ü halde, son yıllarda yapılan çalı malarda PI3K'nin aktivasyonunun antiapoptotik safhanın devamlılı ında çok da gerekli olmadığı tespit edilmi tir (68). *In vivo* ve *in vitro* olarak apoptozise kar ı direnç gösteren enfekte hepatositlerin enfeksiyonun süresine ba ılı olarak artı göstermesinde oldu u gibi ilginç bir ekilde apoptotik direnç artı göstermektedir (68). Apoptozisin inhibisyonu, hepatositlerin invazyonu süresince kritik bir olay olarak görünürken, replikatif karaci er safhası ve karaci erdeki geli imin final safhasında konak

hücre apoptozisine kar ı daha ince ayrıntılı manüplasyonlar icra edilmektedir. Son yıllarda Sturm ve ark. (2006) eritrositlerin enfeksiyonundan önce *P. berghei* merozoitleriyle dolu hepatositlerin sayılarında artı lar gözlemlenmiştir (66). Bu hücreler; sitoplazmik sitokrom c salınımı, mitokondriyal membran potansiyelinin kaybı ve nüklear yo unlaşma gibi olayları içeren multiple karakteristikte apoptotik olayları göstermektedir (66). Hepatositik enfeksiyonun erken dönemi apoptozisin inhibisyonuna ba ılıyken, merozoitler kan dola ımına katılıp eritrositleri enfekte etmek için vezikül olu umunu te vik etmekte ve bunun için de nonapoptotik ve nonnekrotik hücre ölümünü indüklemektedir (66).

Sonuç

Apoptozis tarihçesinden de anlaşı lca ı üzere uzun zaman önce bilim adamları tarafından ke fedilmi ve birçok bilim adamının merak konusu olmu tur. Sadece parazitoloji ve protozoolojik çalı malarda de il, gerek insan gerekse hayvan sa ılı ı için çözümü merakla beklenen tüm hastalıklar ya da fizyolojik olaylar için apoptoz ara tırılmı tir. Bunlara örnek olarak üreme hücreleri, kanser hücreleri, fizyolojik ömrünü tamamlayan vücut hücreleri vb. durumlar ara tırma konusu olmu tur. Parazitolojide ise hücre içi zorunlu protozoon parazitler, hayatlarını devam ettirme amacı ile konak hücreyi ya amaya zorlayarak kısmen kendi ya am döngüsünün de devamını sa lamak isterler. Protozonlar buldukları konak hücrenin fizyolojisine göre farklı metodlar veya sinyal yollarını etkileyerek apoptozisi engellerler ve hayatlarını böylelikle devam ettirirler.

Kaynaklar

1. Aga E, Katschinski DM, van Zandbergen G, Laufs H, Hansen B, Müller K, Solbach W, Laskay T, 2002. Inhibition of the spontaneous apoptosis of neutrophil granulocytes by the intracellular parasite *Leishmania major*. *J Immunol*, 169(2): 898-905.
2. Akarid K, Arnoult D, Micic-Polianski J, Sif J, Estaquier J, Ameisen JC, 2004. *Leishmania major*-mediated prevention of programmed cell death induction in infected macrophages is associated with the repression of mitochondrial release of cytochrome c. *J Leukoc Biol*, 76: 95-103.
3. Altunkaynak BZ, Özbek E, 2008. Programlanmış Hücre Ölümü: Apoptoz Nedir? *Tıp Ara Derg*, 6 (2): 93 -104.

4. Aoki MP, Guiñazú NL, Pellegrini AV, Gotoh T, Masih DT, Gea S, 2004. Cruzipain, a major *Trypanosoma cruzi* antigen, promotes arginase-2 expression and survival of neonatal mouse cardiomyocytes. *Am J Physiol Cell Physiol*, 286 (2): 206-212.
5. Aoki Mdel P, Cano RC, Pellegrini AV, Tanos T, Guiñazú NL, Coso OA, Gea S, 2006. Different signaling pathways are involved in cardiomyocyte survival induced by a *Trypanosoma cruzi* glycoprotein. *Microbes Infect*, 8 (7): 1723-1731.
6. Baumgartner M, Chaussepied M, Moreau MF, Werling D, Davis WC, Garcia A, Langsley G, 2000. Constitutive PI3-K activity is essential for proliferation, but not survival, of *Theileria parva*-transformed B cells. *Cell Microbiol*, 2 (4): 329-339.
7. Botteron C, Dobbelaere D, 1998. AP-1 and ATF-2 are constitutively activated via the JNK pathway in *Theileria parva*-transformed T-cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 246 (2): 418-421.
8. Carmen JC, Hardi L, Sinai AP, 2006. *Toxoplasma gondii* inhibits ultraviolet light-induced apoptosis through multiple interactions with the mitochondrion-dependent programmed cell death pathway. *Cell Microbiol*, 8 (2): 301-315.
9. Carmen JC, Anthony PS, 2007. Suicide prevention: disruption of apoptotic pathways by protozoan parasites. *Mol Microbiol*, 64 (4): 904-916.
10. Carrolo M, Giordano S, Cabrita-Santos L, Corso S, Vigário AM, Silva S, Leirião P, Carapau D, Armas-Portela R, Comoglio PM, Rodriguez A, Mota MM, 2003. Hepatocyte growth factor and its receptor are required for malaria infection. *Nat Med*, 9 (11): 1363-1369.
11. Chaussepied M, Lallemand D, Moreau MF, Adamson R, Hall R, Langsley G, 1998. Upregulation of Jun and Fos family members and permanent JNK activity lead to constitutive AP-1 activation in *Theileria*-transformed leukocytes. *Mol Biochem Parasitol*, 94 (2): 215-226.
12. Chen XM, Gores GJ, Paya CV, LaRusso NF, 1999. *Cryptosporidium parvum* induces apoptosis in biliary epithelia by a Fas/Fas ligand-dependent mechanism. *Am J Physiol*, 277: 599-608.
13. Chen XM, Levine SA, Splinter PI, Tietz PS, Ganong AL, Jobin C, Gores GJ, Paya CV, La Russo NF, 2001. *Cryptosporidium parvum* activates nuclear factor kappaB in biliary epithelia preventing epithelial cell apoptosis. *Gastroenterology*, 120: 1774-1783.
14. Chowdhury I, Tharakan B, Bhat GK, 2008. Caspases-an update. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 151 (1): 10-27.
15. Chuenkova MV, Pereira MA, 2001. The *T. cruzi* trans-sialidase induces PC12 cell differentiation via MAPK/ERK pathway. *Neuroreport*, 12 (17): 3715-3718.
16. Chuenkova MV, Pereira MA, 2003. PDNF, a human parasite-derived mimic of neurotrophic factors, prevents caspase activation, free radical formation, and death of dopaminergic cells exposed to the Parkinsonism-inducing neurotoxin MPP+. *Brain Res Mol Brain Res*, 119 (1): 50-61.
17. Chuenkova MV, Pereira Perrin M, 2004. Chagas' disease parasite promotes neuron survival and differentiation through TrkA nerve growth factor receptor. *J Neurochem*, 91 (2): 385-394.
18. Chuenkova MV, Pereira Perrin M, 2005. A synthetic peptide modeled on PDNF, Chagas' disease parasite neurotrophic factor, promotes survival and differentiation of neuronal cells through TrkA receptor. *Biochemistry*, 44 (48): 15685-15694.
19. Contassot E, Gaide O, French LE, 2007. Death receptors and apoptosis. *Dermatol Clin*, 25 (4): 487-501.
20. Cotran RS, Kumar V, Collins T, 2009. *Pathologic Basis of Disease*. 8th ed. WB Philadelphia, Saunders Company, pp. 1-30.
21. Dessauge F, Lizundia R, Baumgartner M, Chaussepied M, Langsley G, 2005a. Taking the Myc is bad for *Theileria*. *Trends Parasitol*, 21: 377-385.
22. Dessauge F, Hilaly S, Baumgartner M, Blumen B, Werling D, Langsley G, 2005b. c-Myc activation by *Theileria* parasites promotes survival of infected B-lymphocytes. *Oncogene*, 24: 1075-1083.
23. Dobbelaere DA, Rottenberg S, 2003. *Theileria*-induced leukocyte transformation. *Curr Opin Microbiol*, 6 (4): 377-382.

24. Dobbelaere DA, Küenzi P, 2004. The strategies of the *Theileria* parasite: a new twist in host-pathogen interactions. *Curr Opin Immunol*, 16 (4): 524-530.
25. Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH, 1999. Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annu Rev Biochem*, 68: 383-424.
26. Erwig LP, Henson PM, 2008. Clearance of apoptotic cells by phagocytes. *Cell Death Differ*, 15: 243-250.
27. Esch F, Lin KI, Hills A, Zaman K, Baraban JM, Chatterjee S, Rubin L, Ash DE, Ratan RR, 1998. Purification of a multipotent antideath activity from bovine liver and its identification as arginase: nitric oxide-independent inhibition of neuronal apoptosis. *J Neurosci*, 18 (11): 4083-4095.
28. Galley Y, Hagens G, Glaser I, Davis W, Eichhorn M, Dobbelaere D, 1997. Jun NH2-terminal kinase is constitutively activated in T cells transformed by the intracellular parasite *Theileria parva*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94 (10): 5119-5124.
29. Gazzinelli RT, Denkers EY, 2006. Protozoan encounters with Toll-like receptor signalling pathways: implications for host parasitism. *Nat Rev Immunol*, 6 (12): 895-906.
30. Goebel S, Lüder CG, Lugert R, Bohne W, Gross U, 1998. *Toxoplasma gondii* inhibits the in vitro induced apoptosis of HL-60 cells. *Tokai J Exp Clin Med*, 23 (6): 351-356.
31. Goebel S, Gross U, Lüder CG, 2001. Inhibition of host cell apoptosis by *Toxoplasma gondii* is accompanied by reduced activation of the caspase cascade and alterations of poly(ADP-ribose) polymerase expression. *J Cell Sci*, 114 (19): 3495-3505.
32. Guernon J, Dessauge F, Langsley G, Garcia A, 2003. Apoptosis of *Theileria*-infected lymphocytes induced upon parasite death involves activation of caspases 9 and 3. *Biochimie*, 85 (8): 771-776.
33. Guernon J, Dessauge F, Traincard F, Cayla X, Rebollo A, Bost PE, Langsley G, Garcia A, 2006. A PKA survival pathway inhibited by DPT-PKI, a new specific cell permeable PKA inhibitor, is induced by *T. annulata* in parasitized B-lymphocytes. *Apoptosis*, 11 (8): 1263-1273.
34. Hashimoto M, Nakajima-Shimada J, Aoki T, 2005. *Trypanosoma cruzi* posttranscriptionally up-regulates and exploits cellular FLIP for inhibition of death-inducing signal. *Mol Biol Cell*, 16 (8): 3521-3528.
35. Heussler VT, Machado J Jr, Fernandez PC, Botteron C, Chen CG, Pearse MJ, Dobbelaere DA, 1999. The intracellular parasite *Theileria parva* protects infected T cells from apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96 (13): 7312-7317.
36. Heussler VT, Küenzi P, Rottenberg S, 2001a. Inhibition apoptosis by intracellular protozoan parasites. *Int J Parasitol*, 31: 1166-1176.
37. Heussler VT, Küenzi P, Fraga F, Schwab RA, Hemmings BA, Dobbelaere DA. 2001b. The Akt/PKB pathway is constitutively activated in *Theileria*-transformed leucocytes, but does not directly control constitutive NF-kappaB activation. *Cell Microbiol*, 3 (8): 537-550.
38. Heussler VT, Rottenberg S, Schwab R, Küenzi P, Fernandez PC, McKellar S, Shiels B, Chen ZJ, Orth K, Wallach D, Dobbelaere DA, 2002. Hijacking of host cell IKK signalosomes by the transforming parasite *Theileria*. *Science*, 298: 1033-1036.
39. Hökelek M, 2009. Patogenez ve apoptozis (hücre sel hasar mekanizmaları, programlanmı hücre ölümü). Özcel MA. Tanyüksel M. Eren H. eds. *Moleküler Parazitoloji*. Meta Basım, Bornova, zmir. pp.31-47.
40. Kargı A, Özer E, 2007. Hücre sel patoloji. Kuzey GM. Özdamar O. Zengero lu S. eds. *Temel Patoloji*. Ankara, Güne Kitabevi, pp. 9-27.
41. Keller P, Schaumburg F, Fischer SF, Häcker G, Gross U, Lüder CG, 2006. Direct inhibition of cytochrome c-induced caspase activation in vitro by *Toxoplasma gondii* reveals novel mechanisms of interference with host cell apoptosis. *FEMS Microbiol Lett*, 258 (2): 312-319.
42. Kerr JFR, Wyllie Ah, Currie AE, 1972. Apoptozis: A basic biological phenomonon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Be J Cancer*, 26: 239-257.
43. Kim JM, Denkers EY, 2006. *Toxoplasma gondii* triggers Gi-dependent PI 3-kinase signaling required for inhibition of host cell apoptosis. *J Cell Sci*, 119: 2119-2126.

44. Küenzi P, Schneider P, Dobbelaere DA , 2003. *Theileria parva*-transformed T cells show enhanced resistance to Fas/Fas ligand-induced apoptosis. *J Immunol*, 171 (3): 1224-1231.
45. Lamkanfi M, Festjens N, Declercq W, Vandenberghe BT, Vandennebeele P, 2007. Caspases in cell survival, proliferation and differentiation. *Cell Death Differ*, 14 (1): 44-55.
46. Leirião P, Albuquerque SS, Corso S, van Gemert GJ, Sauerwein RW, Rodriguez A, Giordano S, Mota MM, 2005. HGF/MET signalling protects *Plasmodium*-infected host cells from apoptosis. *Cell Microbiol*, 7 (4): 603-609.
47. Lisi S, Sisto M, Acquafredda A, Spinelli R, Schiavone M, Mitolo V, Brandonisio O, Panaro M, 2005. Infection with *Leishmania infantum* inhibits actinomycin D-induced apoptosis of human monocytic cell line U-937. *J Eukaryot Microbiol*, 52: 211–217.
48. Liu J, Enomoto S, Lancto CA, Abrahamsen MS, Rutherford MS, 2008. Inhibition of apoptosis in *Cryptosporidium parvum*-infected intestinal epithelial cells is dependent on survivin. *Am Soc Microbiol*, 76: 3784-3792.
49. Lizundia R, Sengmanivong L, Guernon J, Müller T, Schnelle T, Langsley G, Shorte SL, 2005. Use of micro-rotation imaging to study JNK-mediated cell survival in *Theileria parva*-infected B-lymphocytes. *Parasitology*, 130 (Pt 6): 29-35.
50. Lizundia R, Chaussepied M, Huerre M, Werling D, Di Santo JP, Langsley G, 2006. c-jun NH2-terminal kinase/c-Jun signaling promotes survival and metastasis of B lymphocytes transformed by *Theileria*. *Cancer Res*, 66: 6105-6110.
51. Majno G, Joris I, 1995. Apoptosis, oncosis, necrosis: An overview of cell death. *Am J Pathol*, 146: 3-15.
52. McPhillips KA, Erwig LP, 2009. Assessment of apoptotic cell phagocytosis by macrophages. *Methods Mol Biol*, 559: 247-256.
53. Mele R, Gomez Morales MA, Tosini F, Pozio E, 2004. *Cryptosporidium parvum* at different developmental stages modulates host cell apoptosis in vitro. *Infect Immun*, 72: 6061-6067.
54. Molestina RE, Payne TM, Coppens I, Sinai AP, 2003. Activation of NF-kappaB by *Toxoplasma gondii* correlates with increased expression of antiapoptotic genes and localization of phosphorylated IkkappaB to the parasitophorous vacuole membrane. *J Cell Sci*, 116 (21): 4359-4371.
55. Moore KJ, Turco SJ, Matlashewski G, 1994. *Leishmania donovani* infection enhances macrophage viability in the absence of exogenous growth factor. *J Leukoc Biol*, 55: 91-98.
56. Mota MM, Rodriguez A, 2001. Migration through host cells by apicomplexan parasites. *Microbes Infect*, (13): 1123-1128.
57. Nakajima-Shimada J, Zou C, Takagi M, Umeda M, Nara T, Aoki T, 2000. Inhibition of Fas-mediated apoptosis by *Trypanosoma cruzi* infection. *Biochim Biophys Acta*, 1475 (2): 175-183.
58. Nash PB, Purner MB, Leon RP, Clarke P, Duke RC, Curiel TJ, 1998. *Toxoplasma gondii*-infected cells are resistant to multiple inducers of apoptosis. *J Immunol*, 160 (4): 1824-1830.
59. Payne TM, Molestina RE, Sinai AP, 2003. Inhibition of caspase activation and a requirement for NF-kappaB function in the *Toxoplasma gondii*-mediated blockade of host apoptosis. *J Cell Sci*, 116 (21): 4345-4358.
60. Pop C, Salvaseen GS, 2009. Human caspases: activation, specificity, and regulation. *J Biol Chem*, 284 (33): 21777-21781.
61. Prudêncio M, Rodriguez A, Mota MM, 2006. The silent path to thousands of merozoites: the *Plasmodium* liver stage. *Nat Rev Microbiol*, 4 (11): 849-856.
62. Ribeiro-Gomes FL, Moniz-de-Souza MC, Borges VM, Nunes MP, Mantuano-Barradas M, D'Avila H, Bozza PT, Calich VL, DosReis GA, 2005. Turnover of neutrophils mediated by Fas ligand drives *Leishmania* major infection. *J Infect Dis*, 192 (6): 1127-1134.
63. Ruhland A, Leal N, Kima PE, 2007. *Leishmania* promastigotes activate PI3K/Akt signalling to confer host cell resistance to apoptosis. *Cell Microbiol*, 9: 84–96.

64. Shaha C, 2006. Apoptosis in *Leishmania* species&its relevance to disease pathogenesis. *Indian J Med Res*, 123: 233-244.
65. Shapira S, Speirs K, Gerstein A, Caamano J, Hunter CA, 2002. Suppression of NF-kappaB activation by infection with *Toxoplasma gondii*. *J Infect Dis*, 185 (1): 66-72.
66. Sturm A, Amino R, van de Sand C, Regen T, Retzlaff S, Rennenberg A, Krueger A, Pollok JM, Menard R, Heussler VT, 2006. Manipulation of host hepatocytes by the malaria parasite for delivery into liver sinusoids. *Science*, 313: 1287–1290.
67. Tomatır AG, 2003. Apoptoz: Programlı Hücre Ölümü. *T Klin Tıp Bilim*, 23: 499-508.
68. Van de Sand C, Horstmann S, Schmidt A, Sturm A, Bolte S, Krueger A, Lütgehetmann M, Pollok JM, Libert C, Heussler VT, 2005. The liver stage of *Plasmodium berghei* inhibits host cell apoptosis. *Mol Microbiol*, 58 (3): 731-742.
69. Van Zandbergen G, Klinger M, Mueller A, Dannenberg S, Gebert A, Solbach W, Laskay T, 2004. Cutting edge: neutrophil granulocyte serves as a vector for *Leishmania* entry into macrophages. *J Immunol*, 173 (11): 6521-6525.
70. Van Zandbergen G, Bollinger A, Wenzel A, Kamhawi S, Voll R, Klinger M, Müller A, Hölscher C, Herrmann M, Sacks D, Solbach W, Laskay T, 2006. *Leishmania* disease development depends on the presence of apoptotic promastigotes in the virulent inoculum. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103: 13837-13842.
71. Wyllie AH, Morris RG, Smith AI, Dunlop D, 1984. Chromatine cleavage in apoptozis: association with condensed chromatin morphology and dependence on macromolecular synthesis. *J Pathol*, 142: 67-77.
72. Xiao GH, Jeffers M, Bellacosa A, Mitsuuchi Y, Vande Woude GF, Testa JR, 2001. Anti-apoptotic signaling by hepatocyte growth factor/Met via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and mitogen-activated protein kinase pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98 (1): 247-252.
73. Xie Z, Zhang Y, Li A, Li P, Weihong JI, Huang D, 2009. Cd-induced apoptosis was mediated by the release of Ca²⁺ from intracellular Ca storage. *Toxicol Lett*, doi: 10.1016/j.toxlet.2009.10.011.

Yazı ma Adresi

Prof. Dr. Abdullah NC
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Parazitoloji Anabilim Dalı Kocasinan/ Kayseri
Tel: 0352 339 2312
e-mail: ainci@erciyes.edu.tr