



DERLEME/REVIEW

NLRP3 İnflamazom Aktivasyon ve Düzenleme Mekanizmalarına Genel Bir Bakış

An Overview of NLRP3 Inflammasome Activation and Regulation Mechanisms

Dilek Şaker¹ , Sait Polat¹ 

¹Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Adana, Turkey

ABSTRACT

The innate immune system is vital in host defense against pathogens entering the body. The NLRP3 (NACHT-, LRR- and Pysin Domain Containing 3) inflammasome, a component of the innate immune system, is a multimeric protein complex. Inflammasome activation is a process that starts and improves differently from classical inflammatory responses. In order to induce inflammasome activation, there must be a danger signal such as DAMP (Damage-Associated Molecular Pattern) or PAMP (Pathogen-Associated Molecular Pattern) detected. In response to these stimuli, caspase-1 is activated. This in turn leads to cleavage and maturation of potent pro-inflammatory cytokines, IL-1 β (interleukin-1 β) and IL-18 (interleukin-18) by mature caspase-1. Thus, inflammatory responses mediated by IL-1 β and IL-18 are activated. Although NLRP3 activation is an important immune response, its overactivation can cause inflammatory disorders and cell death. For this reason, regulation and inhibition of the NLRP3 inflammasome may be a promising treatment approach for these autoinflammatory diseases. In this review presents the current understanding of the mechanisms of NLRP3 inflammasome activation, as well as recent advances in the non-canonical and alternative inflammasome pathways.

Keywords: Inflammation, NLRP3 inflammasome, Autoinflammatory diseases

ÖZET

Doğal bağışıklık sistemi, vücuda giren patojenlere karşı konakçı savunmasında hayati önem taşır. Doğal bağışıklık sisteminin bir bileşeni olan NLRP3 (NACHT-, LRR- ve pirin alanı içeren 3) inflamazom, multimerik bir protein kompleksidir. İnflamazom aktivasyonu klasik enflamatuvar cevaplardan farklı olarak başlayan ve gelişen bir süreçtir. NLRP3 inflamazom aktivasyonunun oluşması için DAMP'ler (Hasarlanma ile ilişkili moleküler modeller) ve PAMP'ler (Patojenle ilişkili moleküler modeller) gibi çeşitli tehlike sinyallerinin olması gerekir. Bu uyarılara yanıt olarak, kaspaz-1 aktive olur. Aktif kaspaz-1 de, IL-1 β (interlökin-1 β) ve IL-18 (interlökin-18) sitokinlerinin öncül halde bulunan formlarını proteolitik olarak böler ve aktif hale getirir. Böylece IL-1 β ve IL-18 aracılı enflamatuvar yanıtlar aktive olur. NLRP3 aktivasyonu önemli bir bağışıklık cevabı olmasına rağmen aşırı aktivasyonu enflamatuvar hastalıklara ve hücre ölümüne neden olabilmektedir. Bu nedenden dolayı, NLRP3 inflamazomunun regülasyonu ve inhibisyonu otoenflamatuvar hastalıklar için umut verici bir tedavi yaklaşımı olabilir. Bu derlemede, NLRP3 inflamazom aktivasyon mekanizmaları hakkındaki mevcut anlayışın yanı sıra standart olmayan ve alternatif inflamazom yollarındaki son gelişmeler sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: Enflamasyon, NLRP3 inflamazom, Otoimmün hastalıklar

Giriş

İnvazif patojene cevap olarak enflamatuvar hücrelerin birikimi, patojenin fagositozu sonrası çeşitli sitokin ve kemokinlerin salgılanması ve salgılanan bu moleküllerin lenfositleri aktive ederek edinilmiş immün yanıtı indüklemesi ile oluşan enflamasyon, enfeksiyona yol açan patojenin yok edilmesiyle ya da patojenin yok edilemediği durumlarda, kronik enflamatuvar yanıtların başlatılmasıyla sonuçlanır. İskemi-reperfüzyon hasarı, travmatik hasarlar veya kimyasal doku hasarı sonrasında, herhangi bir mikroorganizma olmaksızın başlayan enflamasyona ise "steril enflamasyon" adı verilir. Steril enflamatuvar cevaplarda, mikrobiyal enflamasyona benzer olarak, TNF- α (Tümör Nekroz Faktör- α) ve IL-1 β gibi sitokinlerin salgılanması ve enflamatuvar hücreler olan nötrofil ve makrofajların birikimi gerçekleşir. Steril hücre hasarı veya ölümüne karşı oluşan enflamatuvar cevaplar enfeksiyonlardaki enflamatuvar cevaplara benzer olduğundan,



mikroorganizmalara karşı oluşan immün cevaplara aracılık eden aynı konakçı reseptörleri, steril enflamasyonun başlamasında da rol oynayabilir¹. Diğer taraftan, endojen veya eksojen invaziv patojenleri hedefleyen PRR (Patern-Tanıma Reseptörleri) doğal bağışıklığın temelini oluşturmaktadır. Doğal bağışıklık sistemi, tüm canlıların mikrobiyal saldırılara karşı ilk savunma hattıdır ve organizmayı istila eden patojenler, ölü hücreler veya çevresel tahriş edici maddeler gibi zararlı uyarılara yanıt olarak PRR'leri etkinleştirir². PRR'ler, endojen stres tarafından üretilen PAMP veya DAMP olarak adlandırılan mikrobiyal bileşenleri tanıır ve mikrobiyal enfeksiyonu ortadan kaldırmak ve hasarlı dokuları onarmak için enflamatuvar yolları indükler³. PRR olarak bilinen Toll benzeri reseptörler (TLR'ler) ve NOD benzeri reseptörler (NLR'ler), PAMP'ları ve DAMP'ları tanıyan, membrana bağlı veya sitoplazmik reseptörlerdir⁴. PRR'ler esas olarak monositler, makrofajlar, nötrofiller ve dendritik hücreler gibi immün ve enflamatuvar hücrelerde eksprese edilir⁵. Spesifik ligandı ile bağlanan bu PRR'ler nükleer faktör- κ B (NF- κ B), tip 1 interferon ve mitojen ile aktive protein kinaz (MAPK) yollarını indükleyerek proenflamatuvar sitokin ve kemokinlerin üretimine ve salgılanmasına yol açarlar¹.

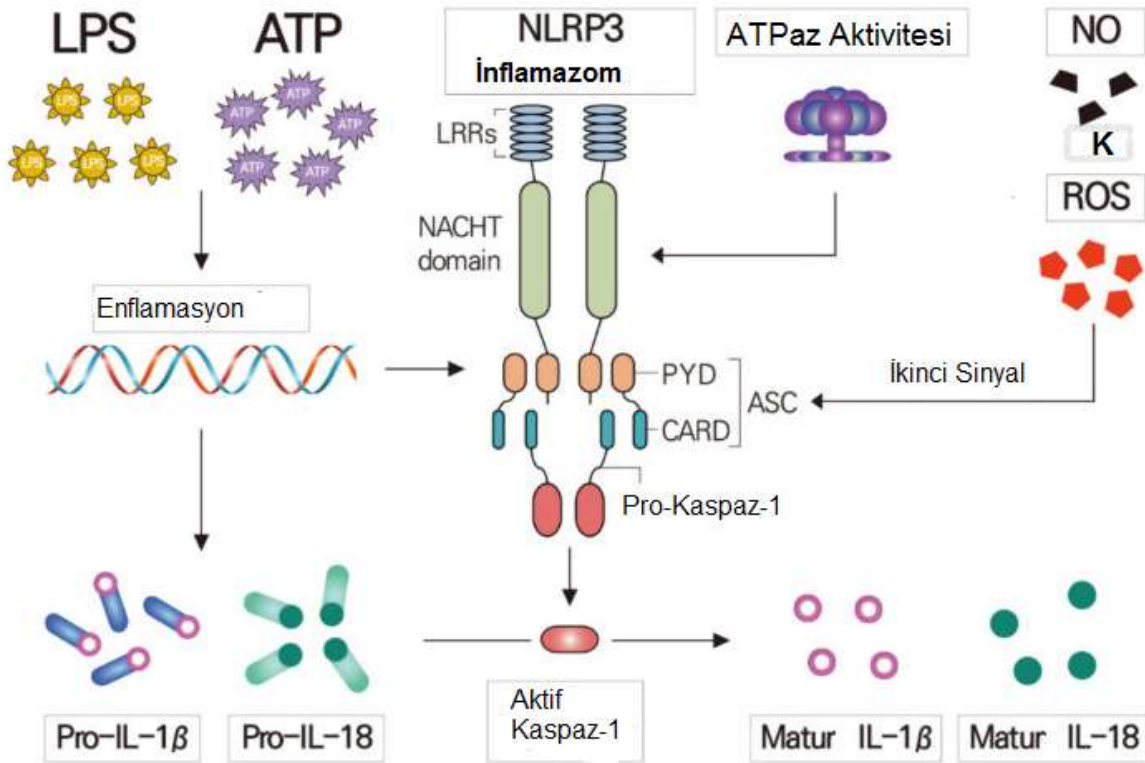
NLRP3 İnflamazom

İmmün sistemin sadece gerektiğinde aktifleşerek, canlıya zarar vermeden savunma işlevini yerine getiren denetim mekanizmalarıyla ilgili çalışmalar son yıllarda önemli ölçüde artmıştır. Bu alandaki en heyecan verici gelişme, ilk olarak 2002 yılında ayrıntılı olarak açıklanan "inflamazom" keşfi olmuştur. Araştırmalar inflamazomların, tehlike sinyallerini algılayarak enflamatuvar cevabı indükleyen "hücre içi anahtar moleküler yapılar" olduklarını göstermektedir⁶. İnflamazomlar, mikrobiyal enfeksiyona ve hücre hasara karşı konakçı immün cevaplarına aracılık etmek için oluşturulan bir grup sitozolik protein kompleksidir. İnflamazom oluşumu, sensör olarak bir patern tanıma reseptörü (PRR), adaptör ASC (bir CARD içeren apoptoz ilişkili benek benzeri protein) ve efektör kaspaz-1 gerektirir. Bir inflamazomun oluşumu, pro-kaspaz-1'in proteolitik bölünmesine yol açar ve aktif kaspaz-1 oluşumu tetiklenir, aktif kaspaz-1 ise sitokin öncülleri olan pro-IL-1 β ve pro-IL-18'i matur ve aktif formlarına IL-1 β ve IL-18'e dönüştürür⁷. Bu sitokinler akut enflamasyonu uyarır ve ateşi yükseltir; nitekim NLRP-3 proteinindeki pirin ismi buradan gelmektedir (Yunancada pirin: yanmak anlamındadır)⁵. Aktif IL-1 β , doğal immün hücrelerin enfeksiyon bölgesine alınması ve edinilmiş immün hücrelerin modülasyonu dahil olmak üzere birçok immün reaksiyonda güçlü bir proenflamatuvar araçtır. Aktif IL-18 ise interferon- γ üretimi ve natural killer hücrelerin ve T hücrelerinin sitozolik aktivitesinin güçlendirilmesi için önemlidir⁷. İnflamazom oluşumu ayrıca piroptozis adı verilen enflamasyonla ilişkili hücre ölümü sürecini de indükler. Bugüne kadar PRR'nin alt tiplerinin (NLRP1, NLRP3, NLRC4, Pyrin ve AIM2) inflamazom oluşturduğu gösterilmiştir⁷. En çok çalışılmış ve en iyi karakterize edilmiş inflamazom sensör molekülü olan NLRP3, NLR ailesinin üçlü bir proteindir ve bir amino terminal PİRİN (PYD) alanı, bir nükleotid bağlayıcı NACHT alanı ve bir karboksi terminal lösin açısından zengin tekrar (LRR) alanı içerir. NLRP3 inflamazomu, makrofaj ve mikrogliya gibi immün sistem hücrelerine ulaşan tehlike sinyallerini tanıyan ve IL-1 β ile IL-18 aracılı enflamatuvar yanıtların aktivasyonuna aracılık eden sitozolik sinyal kompleksidir^{8,9}. NLRP3 inflamazomu, bakteriyel, fungal ve viral enfeksiyonlara karşı konakçı immün savunması için de oldukça önemlidir³. NLRP3 özellikle yaşlanma, fiziksel hareketsizlik, aşırı beslenme veya çevresel faktörlerin bir sonucu olarak dokularda bulunan bir dizi uyarana yanıt verir⁸. Bununla birlikte, NLRP3 inflamazomu, otoimmün hastalıklar, metabolik bozukluklar, multipl skleroz, enflamatuvar bağırsak hastalığı, kriyopirin ile ilişkili periyodik ateş sendromu dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların başlaması ve ilerlemesinde rol oynamaktadır⁵.

NLRP3 İnflamazom Aktivasyonu

İmmün aktivatörlerin yokluğunda, NLRP3 ile ASC arasındaki etkileşim baskılanır ve böylece inflamazom oluşumu engellenir. PAMP'ler, DAMP'ler, diğer eksojen istilacılar veya çevresel stres gibi bağışıklık aktivatörlerinin varlığında ise NLRP3 etkinleşir ve NLRP3 ve ASC'deki pirin alanları (PYD'ler) arasında etkileşime izin verilir. Daha sonra, ASC'nin kaspaz alım alanı (CARD), pro-kaspaz-1 üzerindeki CARD alanına bağlanarak NLRP3 inflamazom oluşumuna yol açar⁵. NLRP3'ün uyarılara doğrudan bağlanması mümkün değildir, çünkü NLRP3 inflamazomu yapısal ve kimyasal olarak birbirine benzemeyen çok çeşitli uyarılarla aktive edilir¹⁰. Bunun yerine, NLRP3'ün uyarıcıları tarafından indüklenen ortak bir hücre olayı algıladığı düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda, NLRP3 inflamazom aktivasyonu için iki aşamalı bir sinyal

modeli önerilmektedir. Bu modelde, mikrobiyal bileşenler veya endojen sitokinler tarafından indüklenen bir ilk (primer) sinyal gerçekleşir, bu süreç NLRP3 inflamazom oluşumunun hazırlık aşamasıdır³. Burada, birçok PAMP veya DAMP'ın TLR'ler tarafından tanındığı ve daha sonra inflamazomla ilgili bileşenlerin (NLRP3, pro-IL-1 β , pro-IL-18) transkripsiyonlarını tetikleyen NF- κ B aracılı sinyalizasyonunun aktivasyonu gerçekleşir. Bu hazırlık aşaması genellikle lipopolisakkarit (LPS) kullanılarak *in vitro* çalışılabilmektedir⁵. Yapılan çalışmalarda, hazırlık adımı LPS'nin TLR4'e bağlanmasıyla başlatılır ve TLR'lerin uyarılmasıyla her iki proenflamatuvar sitokinin öncül formu olan pro-IL-1 β ve pro-IL-18'in ve NLRP3'ün NF- κ B aracılı gen transkripsiyonu meydana gelmektedir¹¹. İnaktif durumdaki NLRP3 inflamazomunun aktivasyonu için ikinci bir sinyalizasyon gereklidir. NLRP3 aktivasyonu birçok hücre içi mekanizma ile düzenlenmektedir. Bunlar arasında; ATP, lizozomal hasar, mitokondriyal disfonksiyon, ROS (Reaktif oksijen türleri) aracılı aktivasyon, hücre membranına hasar veren mikrobiyal toksinler ve fagosite edilen çözünmez kristaller yer almaktadır^{3,9}. İkinci sinyalizasyon, inaktif NLRP3'ün aktivasyonuna ve aktif NLRP3, ASC ve pro-kaspaz-1'in bir kompleks halinde birleşmesine yol açar. NLRP3 inflamazom aktivasyonu, prokaspaz-1'in kaspaz-1'e dönüşümüne yol açar. Kaspaz-1; pro-IL-1 β ve pro-IL-18'in aktif formları olan IL-1 β ve IL-18'e dönüşümünü gerçekleştirir (Şekil 1).



Şekil 1. NLRP3 inflamazom Aktivasyonu: Hücre dışı ve hücre içi PAMP'lar ve DAMP'lar NF- κ B aktivasyonuna ve sitokinlerin transkripsiyonuna yol açan reseptörler (birinci sinyal) tarafından algılanır. NLRP3 aktivasyonunu harekete geçiren mekanizmalar; ATP, K⁺ çıkışı, lizozomal hasar ve ROS üretimidir (ikinci sinyal). Bunlar NLRP3 aktivasyonuna neden olur. Adaptör molekülü ASC ve pro-kaspaz-1'den oluşan NLRP3 inflamazom topluluğu, kaspaz-1 aktivasyonuna yol açar, bu da IL-1 β ve IL-18 sitokinlerinin işlenmesi ve salgılanmasını tetikler¹².

NLRP3 İnflamazom İlk (Primer) Sinyalizasyon (Sinyal 1)

İmmün hücreler için, NLRP3 aktivatörlerinin mevcudiyeti tek başına inflamazom oluşumunu ve aktivasyonunu uyararak için yetersizdir, bunun için bir hazırlama (priming) sinyali (sinyal 1) gereklidir³. Makrofaj ya da glia hücrelerinde bulunan PRR'ler tarafından (TLR ya da NLR'ler), PAMP'ların ve DAMP'ların tanınması sonucu enflamasyonu indükleyen NF- κ B sinyalizasyonunun aktivasyonu ve

enflamatuvar sitokinlerin salınması gerçekleşir¹². İlk sinyal sonucu, IL-6, TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinlerin gen transkripsiyonları artar ve doğrudan salınımları gerçekleşir. Diğer taraftan, IL-1 β ve IL-18 üretimi inflamazom aktivasyonunu gerektiren iki aşamalı bir süreçtir⁹. NF- κ B, dinlenme koşulları altında, inflamazom aktivasyonunu başlatmak için yetersiz konsantrasyonlarda var olduğu düşünülen NLRP3 ekspresyonunu ile dinlenme halindeki hücrelerde eksprese edilmeyen pro-IL-1 β ve pro-IL-18'in ekspresyonlarını upregüle etmektedir¹³. Son çalışmalar, apoptotik sinyal molekülleri olan kaspaz-8 ve FADD'nın, inflamazom oluşumu sırasında NLRP3'ün indüksiyonu için gerekli olduğunu ve bunu apoptotik işlevlerinden bağımsız olarak yaptıklarını göstermektedir^{14,15}. Kaspaz-8, NF- κ B transkripsiyonunun ve translokasyonunun indüksiyonunu uyarır ve ardından, NF- κ B aktivasyonu için temel bir unsur olan IKK kompleksi ile etkileşime girer¹⁶. Bununla birlikte, ilk (primer) sinyalin transkripsiyondan bağımsız yollarla da NLRP3 inflamazom aktivasyonunu düzenlediği dikkate alınmalıdır³. TLR ve MyD88'in sinyalizasyonunda bir sinyal molekülü olan IL-1 reseptörü ile ilişkili kinaz 1 (IRAK-1), transkripsiyondan bağımsız sinyal 1'e aracılık eder¹⁷. IRAK-1'in LPS ile indüklenen fosforilasyonu, inflamazom aktivasyonunu IKK kompleksinden bağımsız bir şekilde teşvik eder, bu da NF- κ B sinyalizasyonunun IRAK-1'in inflamazom aktivasyonunu teşvik etme rolü için gerekli olmadığını gösterir. Sonuç olarak, primer sinyaller, hem transkripsiyona bağımlı hem de transkripsiyona bağımsız yollarla NLRP3 inflamazom aktivasyonunu düzenlemektedir³.

NLRP3 Inflamazomunun Aktivasyonu (Sinyal 2)

Hazırlık (priming) aşamasını takiben çok çeşitli uyarın NLRP3 inflamazomunun oluşumunu ve aktivasyonunu tetikler³. NLRP3'ü aktive eden uyarınların kimyasal ve yapısal çeşitliliği göz önüne alındığında, NLRP3'ün aktivatörleri ile fiziksel olarak etkileşime girmesi olası değildir. Bunun yerine, NLRP3 muhtemelen NLRP3 aktivatörlerine yanıt olarak indüklenen ortak bir hücreyel sinyali algılayacaktır⁷. Bununla birlikte, NLRP3'ün aktivasyonuna yol açan kesin moleküler olaylar belirsizliğini korumaktadır. Karşılıklı olarak birbirini dışlamayan çeşitli NLRP3 aktivasyon modelleri geliştirilmiştir⁸. ATP, bakteriyel ve fungal toksinler, mitokondriyal disfonksiyon, ROS oluşumu ve lizozomal hasar da dahil olmak üzere, çoklu moleküler veya hücreyel uyarınların NLRP3 inflamazomunu aktive ettiği gösterilmiştir. Bu uyarınlar:

İyonik Akış: NLRP3 inflamazomunun aktivasyonunda; K⁺ dışı akışı, Ca⁺² mobilizasyonu, Cl⁻ dışı akışı ve Na⁺ içe akışı gibi iyonik akı olayları rol oynamaktadır.

K⁺ dışı akışı; K⁺ dışı akışı tek başına NLRP3'ü aktive edebilirken; diğer taraftan yüksek hücre dışı K⁺, NLRP3 inflamazomunun aktivasyonunu bloke edebilmektedir. Bu nedenle, hücre içi K⁺ 'daki bir azalmanın, NLRP3 inflamazom aktivasyonu için ortak tetikleyici olduğu düşünülmektedir³. Yapılan çalışmalarda, yüksek hücre dışı K⁺ konsantrasyonunun, NLRP3 inflamazom aktivasyonunu bloke ettiği, ancak AIM2 veya NLRC4 inflamazom aktivasyonunu engellemediği gösterilmiştir^{18,19}. K⁺ akışı, ATP, nigerisin ve partikül madde dahil olmak üzere NLRP3 uyarınlarının çoğuna veya tamamına yanıt olarak indüklenir ve sitozolik K⁺ konsantrasyonunun düşürülmesi, NLRP3 inflamazomunu aktive etmek için yeterlidir²⁰. Bununla birlikte, yapılan son çalışmalarda, NLRP3'ü, K⁺ akışından bağımsız olarak aktive edebilen; GB111-NH2, imikimod ve CL097 gibi bazı küçük kimyasal bileşikler tanımlanmıştır. Bu bulgular K⁺ akışının NLRP3 inflamazom aktivasyonu için yeterli olduğunu, ancak mutlaka gerekli olmadığını göstermektedir. NLRP3'ün hücre içi K⁺ konsantrasyonundaki değişiklikleri nasıl algıladığı veya diğer proteinlerin K⁺ akışına yanıt olarak NLRP3 aktivasyonunu düzenleyip düzenlemediğini belirlemek için ileri çalışmalar yapılması gerektiği öngörülmektedir³.

Ca⁺² mobilizasyonu; NLRP3 uyarınları, NLRP3 inflamazom aktivasyonu sürecinde Ca⁺² mobilizasyonunu indükler. Bununla birlikte, Ca⁺² sinyalizasyonunun inhibisyonu, NLRP3 inflamazom aktivasyonunu bloke etmekle birlikte, AIM2 ve NLRC4 inflamazomlarının aktivasyonu üzerinde etkiye sahip değildir²¹. Sitozolik Ca⁺²'daki bir artışın NLRP3 inflamazom aktivasyonunu nasıl tetiklediği henüz bilinmemektedir. Yapılan bir çalışmada, Ca⁺² 'un, makrofajların hücre lizatlarında NLRP3 ve ASC arasındaki etkileşimi artırarak doğrudan NLRP3 inflamazom aktivasyonunu düzenlediği ileri sürülmüştür²². Alternatif olarak, sitozolik Ca⁺² artışının, mitokondriyal disfonksiyona neden olarak NLRP3 inflamazom aktivasyonuna yol açtığı rapor edilmiştir²¹. K⁺ 'un dışı akımını indükleyen uyarınlar, Ca⁺² içermeyen ortam ile inkübe edilmiş makrofajlarda NLRP3 inflamazom aktivasyonunu tetikleyebilir, bu da en azından hücre dışı Ca⁺² havuzunun NLRP3 inflamazom

aktivasyonu için gerekli olmadığını göstermektedir. Sonuç olarak, Ca^{+2} mobilizasyonu, belirli koşullar altında NLRP3 inflamazom aktivasyonunda düzenleyici bir rol oynasa da, NLRP3 inflamazom aktivasyonu için gerekli olmayabilir³.

Ekstraselüler Cl^- akışı, intraselüler Na^+ akışı; Na^+ ve Cl^- akışı, NLRP3 inflamazom aktivasyonunda rol oynayan iki ilave iyonik olaydır. Hücre dışı Na^+ akışını bloke etmek, NLRP3 inflamazom aktivasyonunu inhibe eder. Azalan Na^+ akışının, K^+ akış eşliğini arttırdığı bulunmuştur. Ek olarak, monosodyum urat kristalleri (MSU) fagositozla lizozomlara alındıktan sonra hücre içi Na^+ 'da artışa neden olduğu, su girişine ve hücrel şişmeye yol açtığı ve bunun da hücre içi K^+ konsantrasyonunu düşürdüğü bildirilmiştir²³. Bu nedenle, Na^+ akışı, muhtemelen K^+ akışını modüle ederek, NLRP3 inflamazom aktivasyonunda düzenleyici rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada, hücre dışı Cl^- konsantrasyonundaki bir azalmanın ATP'nin neden olduğu IL-1 β maturasyonunu ve salgılanmasını arttırdığı gösterilmiştir. Tersine, hücre dışı Cl^- artışı, IL-1 β salgılanmasını inhibe etmektedir²⁴. Ayrıca Cl^- akışının ASC oluşumunu indükleyebildiği, ancak K^+ akışı olmadan NLRP3 inflamazom aktivasyonuna yol açmadığı da bildirilmiştir. Cl^- akışının NLRP3 inflamazom aktivasyonunu indüklemek için diğer iyonik olaylarla nasıl koordine olduğunu açıklamak üzere iler araştırmaların yapılması gerektiği bildirilmektedir³.

ROS ve Mitokondriyal disfonksiyon: NLRP3 uyarılarının çoğu hücrelerde ROS üretimini indükleyebilmektedir. Lizozomal NADPH oksidazın ROS üretiminin kaynağı olduğu düşünüldüğünden, ROS, NLRP3 inflamazom aktivasyonu için ortak bir sinyal olarak önerilmektedir³. Kimyasal inhibitörlerle yapılan çalışmalarda NADPH oksidaz tarafından üretilen sitozolik ROS, NLRP3 inflamazom aktivasyonundan sorumlu ortak sinyal olarak düşünülmektedir⁷. Bununla birlikte, yapılan araştırmalarda, NLRP3 inflamazom aktivasyonunun hem fare hem de insan hücrelerinde NADPH oksidazın genetik veya farmakolojik inhibisyonundan etkilenmediği bulunmuştur³. Mitokondriyonların, solunum fonksiyonları yoluyla ROS ürettiği bilinmektedir, bu nedenle mitokondriyal ROS üretiminin inflamazom aktivasyonu ile ilgili olabileceği bildirilmiştir. Mitokondriyal ROS'un (mtROS) NLRP3 inflamazom aktivasyonundaki rolü, mitokondriyal solunum zincirinin inhibisyonu ile üretilen mtROS'un NLRP3 inflamazomunu aktive edebildiği rapor edilmiştir²⁵. Benzer şekilde Nakahira ve arkadaşları, LPS ve ATP'ye yanıt olarak NLRP3 inflamazom aktivasyonu için disfonksiyonel mitokondriyonlardan üretilen mtROS'un gerekli olduğunu ve mitokondriyal DNA'nın (mtDNA) hem NLRP3'e hem de mtROS'a bağımlı bir şekilde sitozole salındığını ortaya koymuşlardır²⁶. Shimada ve arkadaşları, mtDNA'nın hem NLRP3 hem de AIM2 ile etkileşime girmesine rağmen, oksitlenmiş mtDNA'nın özellikle NLRP3 inflamazom aktivasyonu için gerekli olduğunu göstermişlerdir²⁷. Zhong ve arkadaşları, TLR sinyali ile indüklenen yeni sentezlenmiş mtDNA'nın oksitlendiğini ve NLRP3 inflamazom aktivasyonu için gerekli olduğunu bildirmişlerdir²⁸. Tüm bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, NLRP3 inflamazom aktivasyonunda; mtROS, mitokondriyal disfonksiyon ve mtDNA'nın rollerinin olabileceği düşünülmektedir.

Lizozomal Hasar: MSU, alum, silica, asbestos, amiloid- β , kolesterol ve kalsiyum kristalleri gibi çözünmez kristaller, makrofajlarda NLRP3 inflamazom aktivasyonunu indüklemektedir³. Kristal maddeler, fagositozdan sonra lizozomlara zarar verir, sonuçta lizozomal enzimlerin sitozole sızmasına neden olur. Lizozomların doğrudan lizozomal enzimler tarafından parçalanması NLRP3 inflamazom aktivasyonunu tetikleyebildiğinden, kristal madde tarafından lizozom hasarı NLRP3 inflamazom aktivasyonu için kritik bir adım gibi görünmektedir²⁹. Bununla birlikte, lizozomal hasarı NLRP3 inflamazom aktivasyonuna bağlayan mekanizma belirsizliğini korumaktadır. Ek olarak, aktif lizozomal enzimlerin, kristal maddenin fagositozundan sonra NLRP3 inflamazom aktivasyonunu tetiklemek için sitozole salındığı hipotezi öne sürülmektedir. Örneğin, lizozomal katepsin B salınımının IL-1 β salınımı için gerekli olduğu, ancak pro-IL-1 β üretimi için gerekli olmadığı bildirilmiştir, bu da katepsin B'nin NLRP3 inflamazom aktivasyonunda rol oynadığını düşündürmektedir³⁰. Bir dizi çalışmada, katepsin B için kimyasal bir inhibitör olan CA-074-Me ile muamele edilen makrofajlarda, NLRP3 aktivasyonunun inhibe edildiği gösterilmiştir⁷. Bu çalışmalar, NLRP3'ün aktivasyonu için katepsin B'nin rolünü desteklese de, lizozomal hasarın NLRP3 inflamazomunu aktive ettiği mekanizmayı belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır³.

Standart Olmayan İnflamazom Yolağı

Escherichia coli, *Citrobacter rodentium* ve *Vibrio cholera* gibi Gram-negatif bakterilerin çoğu, fare makrofajlarında kaspaz-11 aracılı bir sinyal yolağını aktive ederek IL-1 β /IL-18'in salınmasına yol açarlar; ayrıca piroptozise de neden olurlar. NLRP3 inflamazomunun aksine, bu yol, kaspaz-1'den ziyade insanlarda kaspaz 4/5 ve farelerde kaspaz-11'i gerektirmesinden dolayı standart olmayan inflamazom yolağı olarak tanımlanır³¹. Bu kaspazlar, doğrudan LPS'ye bağlanarak TLR4'ten bağımsız olarak hücre içi LPS'yi algılar. Buna karşılık, yüksek seviyelerde kaspaz-4 eksprese eden insan hücrelerinde standart olmayan inflamazom aktivasyonu için sinyal 1 (priming) gerekmemektedir³². Daha önce yapılan iki ayrı çalışmada, kolera toksini A veya transfeksiyon yoluyla verilen sitozolik LPS'nin bu standart olmayan inflamazom yolağını aktive edebildiği gösterilmiştir⁷. Kaspaz-11'in indüksiyonu için hazırlanan TLR4-inhibe makrofajlar, bu yolu aktive edebilir, bu da LPS için bir ikili tanıma mekanizmasının konakçı bağışıklık sisteminde var olduğunu gösterir: TLR4, hücre dışı LPS'yi algılayarak, kaspaz-11, sitozolik LPS'yi algılar. Bu yolla, NLRP3 hücre içi lipopolisakarit veya hücre stresi veya hücre ölümü işaret eden belirli oksitlenmiş fosforilkolin (oxPAPC) türevlerinin ortaya çıkmasının ardından aktive edilir. Kısaca, bu kaspazlar tarafından LPS veya oxPAPC tespiti, bunların aktivasyonunu indükleyerek por oluşturan protein gasdermin D'nin yarıklanmasına neden olur. Gasdermin D'nin amino-terminal parçası daha sonra oligomerize olur ve membran porlarını oluşturur, bunlar plazma membranına katılarak potasyum dışı akışına yol açar ve bu süreç piroptozisle sonuçlanır^{33,34}.

Alternatif İnflamazom Yolağı

Standart ve standart olmayan inflamazom yollarından farklı olarak, işleyen alternatif bir yolak daha bulunmaktadır. İnsan monositleri, kaspaz-1'i aktive etmek ve IL-1 β maturasyonunu ve sekresyonunu indüklemek için LPS stimülasyonunu takiben, ikincil uyarılara ihtiyaç duymaz³. Alternatif inflamazom yolağında, LPS monositlerden endojen ATP salınımını indükler, salınan ATP, NLRP3 inflamazom aktivasyonunu ve IL-1 β maturasyonunu tetiklemek için P2X7 reseptörünü aktive eder. Fare kemik iliğinden türetilen dendritik hücreler de tek başına LPS ligandlarına yanıt olarak IL-1 β salgılayabilir, ancak insan monositlerinin aksine bu, ATP-P2X7'den bağımsız bir yolla gerçekleşir³⁵. Alternatif inflamazom yolağı, K⁺ dışı akımını gerektirmez ve ASC oluşumunu indüklediği gibi, piroptozise de yol açmaz³.

NLRP3 kaynaklı hastalıklar

Doğal bağışıklık sistemi hastalıklara ve ölümlere karşı etkili bir şekilde koruma sağlayabilirken, NLRP3 inflamazomunun aşırı aktivasyonu, çeşitli hastalıkların, özellikle de metabolik bozukluklar gibi yaşla ilişkili hastalıkların başlamasına ve ilerlemesine yol açabilir⁵. Metabolik hastalıkların yaygınlığı, giderek artan hareketsiz yaşam tarzları, karbonhidratlar, yağlar ve kolesterol bakımından yüksek olan işlenmiş gıdaların artan tüketimi nedeniyle artmaktadır. Lipid birikimi nedeniyle ortaya çıkan metabolik disbiyoz, NLRP3 aktivasyonuna yol açabilmektedir. Örneğin lipid aracılı TLR4 aktivasyonu, NLRP3 inflamazom oluşumu için ilk (primer) sinyali sağlar ve kolesterol kristali oluşumu ve ardından lizozomal bozulma yoluyla NLRP3 aktivasyonunu uyarabilir^{8,36}. Bu durum daha sonra çeşitli enflamatuvar patolojilere ve hastalıklara katkıda bulunan NLRP3 kaynaklı enflamasyonla sonuçlanabilir. Kronik NLRP3 aracılı enflamasyon bazı kanserlerin gelişiminde de rol oynamaktadır; nitekim NLRP3 eksikliği olan fareler kanserojen kaynaklı tümörlere ve spontan metastaza dirençlidir^{37,38}. Aşırı NLRP3 aktivasyonunun zararlı sonuçları, NLRP3'te fonksiyon kazanım mutasyonları olan hastalarda kolaylıkla gözlemlenmektedir³⁹. NLRP3'te bu nadir, kalıtsal otozomal dominant mutasyonlara sahip hastalar, kriyoprin ile ilişkili periyodik sendromlar (CAPS) adı verilen sistemik oto-enflamatuvar sendromlar geliştirir. Pleiotropik bir gen olarak, NLRP3'ün yaşamın erken dönemlerinde enfeksiyon kontrolünde fayda sağladığı düşünülmektedir ve NLRP3 tarafından algılanan çok sayıda hasarla ilişkili uyarıcı göz önüne alındığında, muhtemelen doku hasarına karşı bir immün cevap başlatmak için evrimleşmiştir. NLRP3'ün enfeksiyonları tespit etme ve bunlarla mücadelede evrimsel faydası ne olursa olsun, artık yaşlanan popülasyonlarda ortaya çıkan bulaşıcı olmayan birçok hastalıkta bir sorun haline gelmektedir. Yaşamın ilerleyen dönemlerinde ortaya çıkan birçok yaygın hastalığın patogenezi, kronik enflamasyondan etkilenmektedir. NLRP3, bu tür steril enflamatuvar sinyaller için birincil sensördür, bu nedenle de çeşitli hastalıklarda kronik enflamatuvar doku reaksiyonlarının önemli bir tetikleyicisidir⁸.

NLRP3, doğal bağışıklık sistemi içinde immün algılama ve yanıt için merkezi bir molekül olması nedeniyle, NLRP3 aktivasyonunun veya inhibisyonunun terapötik açıdan faydalı olabileceği düşünülmektedir. Anormal NLRP3 aktivasyonu, yaşam tarzı ve yaşlanma ile ilişkili geniş bir dejeneratif hastalıklar yelpazesinin temelini oluşturan zararlı kronik enflamasyonun temelidir. Günümüzde NLRP3'ün güçlü enflamatuvar potansiyeli ve hastalıklardaki rolü, onu çekici bir ilaç hedefi haline de getirmiştir. NLRP3 agonistleri, bağışıklık fonksiyonlarını güçlendirmek için güçlü immünstimülatör moleküller olarak hareket edebilirken, NLRP3 yolağının farmakolojik inhibitörleri, ya daha iyi tedavi seçenekleri gerektiren ya da yeterli tedavinin bulunmadığı çok çeşitli otoenflamatuvar ve kronik enflamatuvar hastalıklarda geniş terapötik potansiyellere sahiptirler. Şu anda terapötik kullanım için onaylanmış hiçbir NLRP3 antagonisti bulunmamaktadır. Bununla birlikte, NLRP3 bağımlı sitokinleri hedefleyen tedaviler, terapötik kullanım için onaylanmıştır. Bunlar, doğrudan NLRP3 antagonistlerine göre daha az dezavantajlara sahiptir. Bu bulgular, bir ilaç hedefi olarak NLRP3'ün potansiyelini vurgulasa da, NLRP3 yapısı ve aktivasyon mekanizmalarının anlaşılması için ileri araştırmalara gereksinim vardır, bu gerçek hedefe karşı yeni terapötiklerin keşfini ve geliştirilmesini engellemektedir⁸.

Sonuç

Son on yıldır, NLRP3 inflamazom aktivasyon mekanizmasının aydınlatılması için yoğun araştırmalar sürdürülmekte ve çok önemli bilgiler elde edilmektedir. Bununla birlikte, aktivasyon mekanizması henüz tam olarak ortaya çıkarılamamıştır. Standart olmayan inflamazom yolağı ve alternatif inflamazom yolağının keşfi, inflamazom alanındaki büyük ilerlemeleri temsil etmektedir. Bunlara ek olarak, çoklu sinyalizasyon ve hücrel olayların NLRP3 inflamazom aktivasyonunu indüklediği gösterilmiştir. Bu olaylar arasında yer alan K⁺ akışı, çoğu uyaran tarafından NLRP3 inflamazom aktivasyonu için gerekli olan kritik sinyalken, Ca²⁺ mobilizasyonu, Cl⁻ akışı, ROS ve mitokondriyal disfonksiyon gibi diğer pek çok faktörün rolü açıklığa kavuşturulmayı beklemektedir. Bununla birlikte, NLRP3 inflamazom aktivasyonunu düzenleyen mekanizmaları ve NLRP3 inflamazomunu aktive etmek için çeşitli hücre içi sinyal olaylarının nasıl düzenlendiğini anlamak için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. NLRP3 inflamazom aktivasyonunu düzenleyen mekanizmaların ortaya çıkarılması gelecekte doğru ve uygun tedavilerin geliştirilmesinin yanı sıra yeni terapötiklerin keşfini de sağlayacaktır.

Kaynaklar

1. Kesikli SA, Güç D. Steril İnflamasyon ve İnflamazom. ANKEM Derg. 2011;25:102-9.
2. Sharma D, Kaneganti TD. The cell biology of inflammasomes: Mechanisms of inflammasome activation and regulation. J. Cell Biol. 2016;213:617–29.
3. Kelley N, Jeltema D, Duan Y, He Y. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation. Int. J. Mol. Sci. 2019;20:3328.
4. Schroder K, Tschopp J. The Inflammasomes. Cell. 2010;140:821–32.
5. Shao B, Xu Z, Han B, Su D, Liu C. NLRP3 inflammasome and its inhibitors: a review. Frontiers in Pharmacolog. 2015;6:262.
6. Trdizin. Available from: https://app.trdizin.gov.tr/dokuman-goruntule?ext=pdf&path=CrnWZGRsXTjRjLjWxD978OSUAL2jXitizhVYmCxNvH4Z8Ahs_kDHkpOxOpWgszYwDyLz tUwSuCHva_2PxJac6LjQwtm8RiZLCi2oA_RET6abSR9cp62ynnLp3sfPyY70W8607s7mQZM810EOcuowow_Bq5symY zpbJlJABjs7JZpI13HG1vGn4Li84WOfSzdJrsxZxRjlCPJ9sZtOkSBOw_3uNLnlGCpPJdHfrBbIk=&contentType=application/pdf. Accessed: 12 October 2021.
7. He Y, Hara H, Nunez G. Mechanism and regulation of NLRP3 inflammasome activation. Trends Biochem Sci. 2016;41:1012–21.
8. Mangan MSJ, Olhava EJ, Roush WR, Seidel HM, Glick GD, Latz E. Targeting the NLRP3 inflammasome in inflammatory diseases. Nature Reviews. 2018;17:588-606.
9. Şahin C, Arıcıoğlu F. Depresyon ve Sitokin Hipotezinde Yeni Bir Boyut: 'NLRP3 İnflamazomu'. MÜSBED. 2013;3:65-8.
10. Fernandes-Alnemri T, Wu J, Yu JW, Datta P, Miller B, Jankowski W, Rosenberg S, Zhang J, Alnemri ES. The pyroptosome: A supramolecular assembly of ASC dimers mediating inflammatory cell death via caspase-1 activation. Cell Death Differ. 2007;14:1590–604.
11. Arıöz BI. Melatonin'in Mikroglial Hücrelerde İnflamazom Aktivasyonuna Etkisi (Yüksek Lisans Tezi). İzmir. Dokuz Eylül Üniversitesi. 2017.
12. Kim N, Kim H, Lee J, Jo S, Won H, Lee G et al. Juglone Suppresses LPS-induced Inflammatory Responses and NLRP3 Activation in Macrophages. Molecules. 2020;25:3104.
13. Bauernfeind FG, Horvath G, Stutz A, Alnemri ES, MacDonald K, Speert D et al. Cutting Edge: NF-κB Activating Pattern Recognition and Cytokine Receptors License NLRP3 Inflammasome Activation by Regulating NLRP3 Expression. J. Immunol. 2009;183:787-91.

14. Gurung P, Anand PK, Malireddi RKS, Walle LV, Opdenbosch NV, Dillon CP et al. FADD and Caspase-8 Mediate Priming and Activation of the Canonical and Noncanonical Nlrp3 Inflammasomes. *J. Immunol.* 2014;192:1835–46.
15. Allam R, Lawlor KE, Yu ECW, Mildenhall AL, Moujalled DM, Lewis RS et al. Mitochondrial apoptosis is dispensable for NLRP3 inflammasome activation but non-apoptotic caspase-8 is required for inflammasome priming. *EMBO Rep.* 2014;15:982–90.
16. Lemmers B, Salmena L, Bidere N, Su H, Matsiyak-Zablocki E, Murakami K et al. Essential Role for Caspase-8 in Toll-like Receptors and NF- κ B Signaling. *J. Biol. Chem.* 2007;282:7416–23.
17. Kim SJ, Cha JY, Kang HS, Lee JH, Lee JY, Park JH et al. Corosolic acid ameliorates acute inflammation through inhibition of IRAK-1 phosphorylation in macrophages. *BMB Rep.* 2016;49:276–81.
18. Petrilli V, Papin S, Dostert C, Mayor A, Martinon F, Tschopp J. Activation of the NALP3 inflammasome is triggered by low intracellular potassium concentration. *Cell Death and Differentiation.* 2007;14:1583–9.
19. Franchi L, Kanneganti T, Dubyak GR, Nunez G. Differential requirement of P2X7 receptor and intracellular K⁺ for caspase-1 activation induced by intracellular and extracellular bacteria. *Journal of Biological Chemistry.* 2007;282:18810–8.
20. Munoz-Planillo R, Kuffa P, Martínez-Colon G, Smith BL, Rajendiran TM, Nunez G et al. K(+) efflux is the common trigger of NLRP3 inflammasome activation by bacterial toxins and particulate matter. *Immunity.* 2013;38:1142–53.
21. Murakami T, Ockinger J, Yu J, Byles V, McColl A, Hofer AM et al. Critical role for calcium mobilization in activation of the NLRP3 inflammasome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109:11282–7.
22. Lee GS, Subramanian N, Kim AI, Aksentjevich I, Goldbach-Mansky R, Sacks DB. The calcium-sensing receptor regulates the NLRP3 inflammasome through Ca²⁺ and cAMP. *Nature.* 2012;492:123–7.
23. Schorn C, Frey B, Lauber K, Janko C, Stryio M, Keppeler H et al. Sodium overload and water influx activate the NALP3 inflammasome. *J. Biol. Chem.* 2011;286:35–41.
24. Verhoef PA, Kertesz SB, Lundberg K, Kahlenberg JM, Dubyak GR. Inhibitory effects of chloride on the activation of caspase-1, IL-1 β secretion, and cytolysis by the P2X7 receptor. *J. Immunol. Baltim. Md 1950.* 2005;175:7623–34.
25. Zhou R, Yazdi AS, Menu P, Tschopp J. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature.* 2011;469:221–5.
26. Nakahira K, Haspel JA, Rathinam VAK, Lee SJ, Dolinay T, Lam HC et al. Autophagy proteins regulate innate immune responses by inhibiting the release of mitochondrial DNA mediated by the NALP3 inflammasome. *Nat. Immunol.* 2011;12:222–30.
27. Shimada K, Crother TR, Karlin J, Dagvadorj J, Chiba N, Chen S et al. Oxidized Mitochondrial DNA Activates the NLRP3 Inflammasome during Apoptosis. *Immunity.* 2012;36:401–14.
28. Zhong Z, Liang S, Sanchez-Lopez E, He F, Shalpour S, Lin X et al. New mitochondrial DNA synthesis enables NLRP3 inflammasome activation. *Nature.* 2018;560:198–203.
29. Hornung V, Bauernfeind F, Halle A, Samstad EO, Kono H, Rock KL et al. Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization. *Nat. Immunol.* 2008;9:847–56.
30. Weber K, Schilling JD. Lysosomes integrate metabolic-inflammatory cross-talk in primary macrophage inflammasome activation. *J. Biol. Chem.* 2014;289:9158–71.
31. Kayagaki N, Warming S, Lamkanfi M, Walle LV, Louie S, Dong J et al. Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11. *Nature.* 2011;479:117–21.
32. Shi J, Zhao Y, Wang Y, Gao W, Ding J, Li P et al. Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS. *Nature.* 2014;514:187–92.
33. Evavold CL, Ruan J, Tan T, Xia S, Wu H, Kagan JC. The pore-forming protein gasdermin D regulates interleukin-1 secretion from living macrophages. *Immunity.* 2018;48:35–44.
34. Zanon I, Tan Y, Di Gioia M, Springstead JR, Kagan JC. By capturing inflammatory lipids released from dying cells, the receptor CD14 induces inflammasome-dependent phagocyte hyperactivation. *Immunity.* 2017;47:697–709.
35. He Y, Franchi, Gabriel Nunez. TLR agonists stimulate Nlrp3-dependent IL-1 β production independently of the purinergic P2X7 receptor in dendritic cells and in vivo. *J Immunol.* 2013;190:334–9.
36. Duewell P, Kono H, Rayner KJ, Sirois CM, Vladimer G, Bauernfeind FG et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature.* 2010;464:1357–61.
37. Chow MT, Sceneay J, Paget C, Wong CSF, Duret H, Tschopp J et al. NLRP3 suppresses NK cell mediated responses to carcinogen-induced tumors and metastases. *Cancer Res.* 2012;72:5721–32.
38. van Deventer HW, Burgents JE, Wu QP, Woodford RT, Brickey WJ, Allen IC et al. The inflammasome component NLRP3 impairs antitumor vaccine by enhancing the accumulation of tumor-associated myeloid-derived suppressor cells. *Cancer Res.* 2010;70:10161–9.
39. Broderick L, De Nardo D, Franklin BS, Hoffman HM, Latz E. The inflammasomes and autoinflammatory syndromes. *Annu. Rev. Pathol.* 2015;10:395–424.

Correspondence Address / Yazışma Adresi

Dilek Şaker
 Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
 Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
 Adana, Türkiye
 e-mail: dsaker@cu.edu.tr

Geliş tarihi/ Received: 13.10.2021

Kabul tarihi/Accepted: 09.12.2021