



## DOĞAL ÖLDÜRÜCÜ HÜCRE AKTİVİTESİNDE İMMUNOMODULATÖR ETKİ GÖSTEREN MOLEKÜLLER

Hüseyin KAYA<sup>1</sup>, Seda KUŞOĞLU GÜLTEKİN<sup>1</sup>, Belkis ATASEVER ARSLAN<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Üsküdar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 34662, İstanbul, Türkiye

**Özet:** Doğal Öldürücü (NK) hücreleri viral enfeksiyonlara karşı savunmadan ve malignant hücrelerin elimine edilmesinden sorumludur. NK aktivitesi, aktivatör ve inhibitör etkiye sahip yüzey reseptörleri, sitokinlerin etkisi ve diğer immun hücrelerle yaptıkları etkileşimler tarafından düzenlenir. Kanser immünoterapi stratejilerinde, T hücreleri, NK hücreler, NK-T hücreleri, B hücreleri, dendritik hücreler ve makrofajların kanser hücrelerini tanıma ve elimine etme özelliklerinden yararlanması amaçlanır. Doğal öldürücü hücre reseptörleri, NK hücresi aktivasyonunu ve homeostazını düzenlemeden sorumludurlar. Bu reseptörlerden iletilen aktive edici ve inhibitör sinyaller arasındaki denge NK hücre işlevselliğini kontrol eder. Aktivatör reseptörler, sitotoksikite reseptörlerini (NCRs) (NKp46, NKp30 ve NKp44) ve CD94/NKG2C, NKG2D, NKG2E/H ve NKG2F reseptörlerini içerir. İnhibitör reseptörler arasında C-tipi lektin reseptörleri (CD94 / NKG2A / B) ve KIR reseptörleri (KIR-2DL ve KIR-3DL) bulunur. Derlemede NK hücrelerinin etki mekanizmaları ve NK hücre aktivitesine immunomodulatör etki gösteren moleküller ele alınmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Anti-tümör, İmmünoterapi, NK hücreleri

### Molecules That Show Immunomodulator Effect on Natural Killer Cell Activity

**Abstract:** Natural Killer (NK) cells are responsible for defending against viral infections and eliminating malignant cells. NK activity is regulated by surface receptors with activating and inhibitory effects, the action of cytokines, and their interactions with other immune cells. Cancer immunotherapy strategies aim to benefit from the ability of T cells, NK cells, NK-T cells, B cells, dendritic cells and macrophages to recognize and eliminate cancer cells. Natural killer cell receptors are responsible for regulating NK cell activation and homeostasis. The balance between activating and inhibitory signals transmitted from these receptors controls NK cell functionality. Activator receptors include cytotoxicity receptors (NCRs) (NKp46, NKp30 and NKp44) and CD94/NKG2C, NKG2D, NKG2E/H and NKG2F receptors. Inhibitory receptors include C-type lectin receptors (CD94 / NKG2A / B) and KIR receptors (KIR-2DL and KIR-3DL). In this review, the mechanisms of action of NK cells and molecules that have immunomodulatory effects on NK cell activity are discussed.

**Keywords:** Anti-tumor, Immunotherapy, NK cells

\*Sorumlu yazar (Corresponding author): Üsküdar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 34662, İstanbul, Türkiye E mail: belkisatasever.arslan@uskudar.edu.tr (B. ATASEVER ARSLAN)

Hüseyin KAYA  <https://orcid.org/0000-0002-5476-7392>  
Seda KUŞOĞLU GÜLTEKİN  <https://orcid.org/0000-0003-0674-1582>  
Belkis ATASEVER ARSLAN  <https://orcid.org/0000-0001-5827-8484>

Gönderi: 14 Ekim 2021

Received: October 14, 2021

Kabul: 24 Ocak 2022

Accepted: January 24, 2022

Yayınlanma: 01 Mayıs 2022

Published: May 01, 2022

**Cite as:** Kaya H, Kuşoğlu Gültekin, S, Atasever Arslan, B. 2022. Molecules that show immunomodulator effect on natural killer cell activity. BSJ Health Sci, 5(2): 312-317.

### 1. Giriş

Viral enfeksiyonlara ve kansere karşı immun yanıtta hem doğal hem de adaptif bağışıklık rol oynamaktadır. Doğal Öldürücü (NK) hücreleri viral enfeksiyonlara karşı savunmadan ve malignant hücrelerin elimine edilmesinden sorumludur. NK aktivitesi, aktivatör ve inhibitör etkiye sahip yüzey reseptörleri, sitokinlerin etkisi ve diğer immun hücrelerle yaptıkları etkileşimler tarafından düzenlenir (Arslan ve Timucin, 2020). Kanser immünoterapi stratejilerinde, T hücreleri, NK hücreler, NK-T hücreleri, B hücreleri, dendritik hücreler ve makrofajların kanser hücrelerini tanıma ve elimine etme özelliklerinden yararlanması amaçlanır (Berrien-Elliott ve ark., 2015). NK hücreleri, lenfoid progenitör hücrelerinden kemik iliğinde gelişir, ancak NK prekürsör hücrelerin karakterizasyonu henüz tam olarak yapılamamıştır (Cheng ve ark., 2013). Gelişimleri sonrası, kemik iliği, lenf düğümleri, dalak, periferik kan, akciğer ve

karaciğer dahil olmak üzere lenfoid ve lenfoid olmayan dokulara dağılırlar (Cheng ve ark., 2013). NK hücreleri, hedef hücre ölümünü indüklemek için perforin ve granzimleri salgılar. Aktivasyonun ardından apoptozu tetiklemek için hedef hücreler üzerindeki reseptörlerine bağlanan ölüm reseptör ligandları olan TRAIL ve FasL eksprese edilir (Orr ve Lanier, 2010). NK hücreleri lokal immun hücreleri aktive edebilen sitokinler ve kemokinler salgılamakta ve özelliklerine sahiptirler ve aktiviteleri interlökinler (IL) -2, -12, -15 veya -21 gibi çok çeşitli sitokinler tarafından kontrol edilir. IL-12'nin NK hücresi aktivasyonu için önemli olduğu gösterilmiştir ve IL-21'in NK hücresinin gelişiminde rol oynamaktadır. IL-2 ve IL-15, sitotoksik T lenfositleri ve NK hücrelerinin proliferasyonunda ortak fonksiyonel özelliklere sahiptirler. Tip I interferonların (IFN) da NK hücre homeostazını ve fonksiyonunu etkilemekle birlikte bunu indirekt olarak dendritik hücreleri tarafından salgılan



IL15 ile ilişkili olarak gerçekleştirirler (Frutoso ve Mortier, 2019).

## 2. NK Hücre Reseptörleri

Doğal öldürücü hücre reseptörleri, NK hücresi aktivasyonunu ve homeostazını düzenlemeden sorumludurlar. Lektin tipi reseptörleri, doğal sitotoksosite reseptörlerini (NCR'ler) ve katil immünooglobulin reseptörlerinden oluşmaktadır. Bu reseptörlerden iletilen aktive ve inhibe edici sinyaller arasındaki denge NK hücre işlevselliğini düzenler (Silva-Santos ve Strid, 2018). NK hücre aktivasyonu, inhibitör ve aktivatör reseptörlerindem iletilen sinyallere bağlı olarak majör histo-uyumluluk kompleksi (MHC) kısıtlaması olmadan hedef hücreyi spontan olarak öldürebilmektedir (Miller, 2001). Aktivatör reseptörler, sitotoksosite reseptörlerini (NCRs) (NKp46, NKp30 ve NKp44) ve CD94/NKG2C, NKG2D, NKG2E/H ve NKG2F reseptörlerini içerir. İnhibitör reseptörler arasında C-tipi lektin reseptörleri (CD94 / NKG2A / B) ve KIR reseptörleri (KIR-2DL ve KIR-3DL) bulunur (Vitale ve ark., 1996). Aktivatör ve inhibitör reseptörlerden algılanan net uyaran dengesi, NK hücresinin aktive ya da inhibe olacağına karar verir (Pallmer ve ark., 2019). Doğal sitotoksosite reseptörü (NCR) ailesi, NKp46 (NCR1, CD335), NKp44 (NCR2, CD336) ve NKp30 (NCR3, CD337) reseptörlerinden oluşur (Pazina ve ark., 2017). Virüsle enfekte olan hücrelere ve tümör hücrelerine karşı NK hücrelerinin sitotoksik fonksiyonunda görev alırlar (Siewiera ve ark., 2015). Transforme edici büyüme faktörü  $\beta 1$ 'in (TGF $\beta 1$ ) NKp30'un ve NKG2D'nin bir kısmının yüzey ekspresyonunu azaltıcı yönde düzenlediğini fakat NKp46 gibi diğer tetikleyici reseptörlere bu etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Dendritik hücrelerin NK aracılı öldürülmesinde rol oynayan ana reseptörün NKp30 olduğu gösterilmiştir (Castriconi ve ark., 2003).

NKp44 sadece aktive olmuş NK hücrelerinde eksprese edilir. IL-2, NK hücreleri üzerinde NKp44 ekspresyonunu indükler. NKp44'ün (NKp44L) bilinen hücresele aktive edici ligandı, karışık soy lösemi-5 proteininin (MLL5) bir izoformudur. Tümör ve transforme edilmiş hücrelerin geniş bir panelinde eksprese edilmektedir (Bowen ve ark., 2018). NKp46, güçlü aktivasyon sinyalleri veren CD3- $\zeta$  ve FcR-as gibi immünoresseptör tirozin bazlı aktivasyon motifi taşıyan polipeptitlerle ilişkili bir aktivatör reseptördür (Narni-Mancinelli ve ark., 2011).

NKG2D, insanlarda NK, NK-T, aktif CD8 + T hücreleri ve bazı CD4 + ve  $\gamma\delta$  + T hücre alt kümelerinde eksprese edilen bir C tipi, lektin benzeri, tip II transmembran glikoprotein aktive edici reseptördür. İnsanlarda, 10 kDa'lık (DAP10) adaptör molekülü DNAX-aktive edici protein ile NKG2D, ligand tanıma üzerine sinyal iletimine ve hücresele aktivasyona aracılık etmek için heksamik yapı oluşturur. NKG2D'ye bağlanan membrana bağlı ligandlar, NK hücresi aktivasyonu ve tümör immün sürveyansında önemli bir rol oynar (Nayyar ve ark., 2019). MIC A / B gibi NKG2D ligandları, transkripsiyonel düzenleme, ribonükleik asit (RNA) ekleme, transkripsiyonel düzenleme, posttranslasyonel düzenleme olarak tümör hücresi yüzeyi

üzerinde seviyelerde düzenlenir. NKG2D ve NKG2D ligandlarının birleşimi, NK hücreleri üzerindeki önleyici sinyallerin üstesinden gelir, NK hücrelerini perforin ve granzim gibi sitotoksik molekülleri serbest bırakacak şekilde aktive eder ve tümör hücrelerinin apoptozunu tetikler (Nayyar ve ark., 2019).

NK Hücre aktivasyon reseptörlerinden biri olan 2B4 reseptörü, detaylı şekilde tanımlaması yapılan SLAM reseptör ailesi üyelerindedir. Bu reseptör ailesinde yer alan Ig benzeri reseptörler hematopoetik hücreler üzerinde ifade edilir. 2B4 reseptörü, homofilik bağlama yoluyla hücreler arası etkileşimlerine aracılık eder. NK hücreleri, SLAM ailesinde yer alan reseptörlerin her birini eksprese edilmesini sağlar. 2B4 reseptörünün yanı sıra T ve B hücre antijeni (NTB-A, SLAMF6, farede Ly108), CD2 benzeri reseptör aktive edici sitotoksik hücreler (CRACC, CD319, SLAMF7), Ly9 (CD229) ve CD84 reseptörleri NK hücreleri tarafından eksprese edilir (Long ve ark., 2013).

DNAM-1, immünooglobulin benzeri süper familyanın bir üyesidir. DNAM-1 ligandları, nektinlere ve nektin benzeri protein ailesine ait poliovirüs reseptörü (PVR, CD155 veya nektin benzeri molekül 5 olarak da bilinir) ve Nektin-2'dir. Aktivasyon sinyali DNAM-1'in bir  $\alpha 1$  zinciri (CD11a) ve bir  $\beta 2$  zincirinden (CD18) oluşan heterodimerik bir molekül olan lenfosit fonksiyonuna bağlı antijen 1 (LFA-1) integrin ile ilişkisine bağlıdır (Cifaldi ve ark., 2019). DNAM-1 ligandı olan CD155, kolon, adenokarsinom, pankreas ve melanom dahil olmak üzere çeşitli insan kanserlerinde eksprese edilir. CD155'in DNAM-1 ile ilişkisi NK hücre sitotoksitesini ve IFN $\gamma$  üretimini desteklediği de bildirilmiştir (Meza-Guzman ve ark., 2020).

TIGIT, CD155'e yüksek afinite ile ve CD112'ye düşük afinite ile bağlanan bir inhibitör reseptördür. CD155 ve CD112, epitelyal hücrelerde ve antijenle aktive edilmiş T hücrelerinde sabit durumda ve poliklonal NK hücrelerinde eksprese edilir. Bu ligandlar "stres kaynaklı" olarak tanımlanır, viral enfeksiyon ve malign transformasyon üzerine ekspresyonları artış gösterir. TIGIT' reseptörünün CD155 ile etkileşimi, aktive edici reseptör DNAM-1 ve CD155 arasındaki etkileşim ile rekabete girerek NK hücre sitolitik aktivitesinin ve IFN $\gamma$  üretiminin azalmasına sebep olur (Sarhan ve ark., 2016). TIGIT, bir immünooglobulin değişken bölge (Ig V) benzeri alan, bir tip I transmembran alan ve bir immünoresseptör tirozin bazlı inhibitör motif (ITIM) ve bir immünooglobulin kuyruk tirozin (ITT) benzeri motif içeren bir sitoplazmik kuyruktan oluşur. TIGIT ligandları arasında, antijen sunan hücreler (APC'ler), T hücreleri ve tümör hücreleri üzerinde ifade edilen poliovirüs reseptörü (CD155 ve PVR) ve nektin-2 (CD112 ve PVRL2) yer alır (Yin ve ark., 2018). TIGIT'in CD155 ile etkileşimi, Fyn ve Lck yoluyla fosforilasyonunu indükleyerek PI3K, MAPK ve NF- $\kappa$ B sinyal yollarını aşağı regüle eden SHIP-1'in işe alınmasına neden olur. Bu etkileşim, DNAM-1 aracılı aktivasyonu dengeleyerek insan NK hücresi sitotoksitesini ve sitokin üretimini inhibe eder. TIGIT blokajı, NK hücrelerini miyeloid türevi baskılayıcı hücreler tarafından inhibisyona karşı dirençli hale getirir (Kim ve Kim, 2018).

NKG2A, hem T hücreleri hem de NK hücreleri üzerinde eksprese edilen ve CD94 ile bir heterodimer oluşturan bir hücre yüzeyi inhibitör reseptörüdür (Bi ve Tian., 2019). NKG2A ekspresyonu KIR-negatif NK hücrelerinde daha sık görülür ve NK hücrelerinde KIR reseptörleri arttıkça azalır. NKG2A, aynı zamanda inhibitör NKG2B ve aktive edici NKG2C/E/H reseptörlerini içeren C-tipi lektin benzeri NKG2 reseptör ailesinin bir inhibitör üyesidir. NKG2A, hemen hemen her hücrenin hücre yüzeyinde yapısal olarak düşük seviyelerde eksprese edilen klasik olmayan bir HLA sınıf I molekülü olan HLA-E ile birleşir (Mahaweni ve ark., 2018). HLA-E ile NKG2A bağlanması üzerine fosforile olan iki ITIM ifade eder. Fosforile ITIM'ler, NK hücresi aktive edici reseptörleri içeren ITAM'dan üretilen sinyalleri baskılayan fosfat SHP-1'i toplar ve aktive eder (McWilliams ve ark., 2016). NKG2A fosfo-ITIM'leri, tirozin fosfat SHP-1 ve SHP-2'nin SH2 alanlarıyla doğrudan etkileşime girer. NK hücrelerinde SHP-1 aracılı defosforilasyonun ana hedeflerinden biri guanin değişim faktörü ve adaptör proteini Vav1'dir. Vav1'in fosforilasyonu, aktin hücre iskeletinin Rac1'e bağlı yeniden düzenlenmesini ve aktive edici sinyallerin amplifikasyonunu önler. CD94/NKG2A'nın inhibitör sinyal kümeleri içinde HLA-E ile etkileşimi de sinyal adaptör proteini Crk'nin fosforilasyonuna bununla birlikte yukarı doğru aktin bağımlı sinyalin bozulmasına yol açabilir (Cichocki ve Miller, 2019).

TIM-3, galektin-9 (Gal-9), yüksek hareketlilik grubu kutu 1 proteini (HMGB1) ve karsinoembriyonik antijenle ilişkili hücre adezyon molekülü 1 (CEACAM-1)'i hedef hücrelere bağlayan tip I glikoproteindir. TIM-3, gastrointestinal stromal tümör, akciğer adenokarsinomu, perinöral yassı epitel hücreli karsinom, melanom, mide kanseri, akut miyeloid lösemi gibi çeşitli tümör tiplerinde yüksek oranda eksprese edilir. İnsan TIM-3 reseptörü, NK hücreleri sitokin üretimi ve sitotoksosite açısından işlevsel olmasına rağmen, TIM-3 antikörlerle çapraz bağlandığında baskılanır. Bu durum TIM-3 ve ligandı arasındaki etkileşim sonucu NK hücrelerinin işlevlerinin bozulmasına sebep olabileceğine işaret etmektedir (Sun ve Sun, 2019). Bu etkileşimin arttırıcı yönde regülasyonu, çeşitli kronik enfeksiyonlarda ve kanserlerde T ve NK hücrelerinin tükenmesi ile ilişkilidir, bu da TIM-3'ü T ve NK hücre bağıışıklığının negatif olarak düzenlendiğini gösterir (Khan ve ark., 2020).

### 3. NK Hücre Sitotoksitesini Düzenleyen Mekanizmalar

NK hücresi sitotoksitesini düzenleyen moleküler mekanizmalar üç bölüme ayrılır;

1. Hedef hücre tanıma,
2. Hedef hücre teması ve immünolojik sinaps (IS) oluşumu,
3. NK hücresi kaynaklı hedef hücre ölümü (Abel ve ark., 2018).

NK hücreleri, doğrudan veya dolaylı hedef tanıma ile sitotoksik etkiler gösterir. Doğrudan tanıma

mekanizmasında, NK hücre yüzeyi reseptörlerinden gönderilen genel bir sinyal ile sinyaller aktive veya inhibe edilir. Doğru hedefi tanıma, NK hücrelerinde sitotoksik granüllerin ekzositozu veya ölüm reseptörü aracılı sitotoksosite olarak hedefi yok edecek mekanizmaları aktive eder. ADCC (antikora bağımlı hücrel sitotoksosite) adı verilen dolaylı bir tanıma mekanizması, NK hücreleri tarafından Fc  $\gamma$  RIIa reseptörünü (CD16) eksprese etme yeteneğini kullanır ve bu da antikora kaplı hedef hücre tespitini mümkün kılar. Ölüm reseptörü aracılı sitotoksitede NK hücreleri tarafından üretilen ölüm ligandları, hedef hücre yüzeyinde ifade edilen ölüm reseptörlerine bağlanır, böylece tanınan nesnenin ölümüne yol açan kaspaz kaskadının aktive edilmesi sağlanmış olur. NK hücreleri, interferon gama (IFN- $\gamma$ ) üreterek hücre aktivitesi de dahil olmak üzere bağıışıklık sistemindeki yanıtları pozitif bir döngü oluşturarak düzene sokar (Grudzien ve Rapak, 2018).

NK hücresi ile hedef hücre arasında bir immünolojik sinaps (IS) oluşturulması yoluyla doğrudan hücrel temas gerektirir. Bir hedef hücre ile ilk temas sırasında, NK hücreleri hedef hücre membranı üzerine spesifik ligandları bağlayarak aktive edilir, bu da IS ve sıkı hücrel temas oluşumuna neden olur. IS, NK hücresindeki integrinlerin ve selektinlerin hedef hücre üzerindeki ilgili ligandlarına bağlanmasıyla başlatılır. İlk olarak, aktin hücre iskeleti yeniden düzenlenir ve NK hücre reseptörleri IS'ye alınır. İtçten dışa sinyallemeye yoluyla LFA-1'in afinitesi ve aviditesi artar, bu da ICAM'lere bağlanmayı arttırır ve böylece IS'yi güçlendirir. Daha sıkı bağlanma, kümelenmiş aktive edici ve inhibitör reseptörlerin, ilgili ligandlarını bağlamasını ve hücre içi motifleri yoluyla sinyal vermesini sağlar. Bu sinyalleşme sonucunda lokal olarak bağılı hedef hücre ölümü gerçekleşir (Netter ve ark. 2017).

NK hücreleri, ağırlıklı olarak litik granüller olarak bilinen önceden oluşturulmuş lizozomal ilişkili organellerin içeriğini serbest bırakarak hedeflerini öldürür. Litik granüllerin ekzositozu, temas bölgesinde bir IS oluşturmak için bir NK hücresinin hedef hücresi ile konjuge edilmesiyle başlayan sıkı bir şekilde düzenlenmiş bir işlemdir. Litik granüller, mikrotübül düzenleme merkezine (MTOC) doğru yaklaşan mikrotübüller üzerinde nakledilir ve bu da IS'nin dışında serbest bırakılmalarını önler. NK hücresi ve hedef hücresi arasındaki litik IS'deki sinyallerin geçici ve uzamsal entegrasyonu, aktin hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesine ve ardından hedef hücreye odaklanmış salınım sağlamak için MTOC ve litik granüllerin IS'ye kutuplaşmasına yol açar. Daha sonra, NK hücresi öldürülen hedeften ayrılır, bu noktada NK hücresi ek hedef hücreleri yok eden seri öldürmelere aracılık eder (Gwalani ve Orange, 2018).

NK hücreleri, CD8 T hücreleriyle aynı öldürme mekanizmaları ile öldürür: Hedef hücrelere zarı geçiren proteinler içeren sitotoksik granüller salgılar ve apoptozu indükleyen efektör proteinlerin girişine izin verir. TRAIL veya CD95-L gibi ölüm reseptör ligandlarını eksprese

ederler ve bunlar hedef hücrelerin yüzeyinde ölüm reseptörleri ile etkileşime girerek hedef hücre apoptozunu başlatır. Aktive edici reseptörlerden olan SLAM ailesinin, hematopoietik hücrelerin NK hücreleri tarafından tanınmasında önemli roller üstlenir. Bu protein ailesi; CD48, Ly9, 2B4, CD84, Ly108 ve CRACC'yi içerir. SLAM reseptörleri, çeşitli hematopoietik hücre tiplerinde geniş ve seçici olarak eksprese edilir. Çoğu SLAM reseptörü başka bir hücrede aynı proteinle homotipik olarak etkileşir (Shifrin ve ark., 2014). NK hücrelerinin aktive edici reseptörlerinin çoğu, sitosolik Tyr bazlı motifleri aracılığıyla sinyal verir ve bunların sinyalleri, motifteki önemli Tyr kalıntılarının fosforilasyonu ile başlar. Fc reseptörü Fc  $\gamma$  RIIIa (CD16), immünoresseptör Tyr bazlı aktivasyon motifi (ITAM) taşıyan FcR $\gamma$  ve/veya CD3  $\zeta$  zincirlerinin homo- veya hetero - dimeri ile birleştiğinde sinyal verir. ITAM'ler, T hücresi reseptörü (TCR) dahil olmak üzere birçok immünoresseptör tarafından kullanıldığından, ITAM tabanlı sinyalleşme en iyi anlaşılan sinyal yolları arasındadır. ITAM, Src ailesi kinazlar tarafından fosforile edilir. Fosforillenmiş ITAM'lar, SH2 alan bazlı etkileşimler yoluyla, fosforinositid 3-kinaz (PI3K) dahil olmak üzere çeşitli sinyal moleküllerinin işe alınmasına yol açabilen, transmembran adaptör proteinlerini fosforile edebilen Tyr kinazlar ZAP - 70 ve Syk'ı işe alır (Kumar, 2018).

Aktive edici reseptör NKG2D ve Ly49D'nin aynı kökenli ligandları ile etkileşimi, DAP10 ve DAP12 gibi ilişkili adaptör proteininin sitoplazmik kuyruklarında bulunan YINM motifinin veya immünoreseptör tirozin bazlı aktivasyon motiflerinin (ITAM'ler) fosforilasyonuna yol açar. Fosforile ITAM ya da YINM motifi Syk / Zap70, PI3K ve Grb2 / Vav1 / SLP-76 kompleksini çalışmaya başlatır. Grb2 / Vav1 / SLP-76 yol aktivasyonu, MEK / hücre dışı sinyal ayarlı kinaz (ERK) yolunun aşağı akış aktivasyonuna yol açar. Fosforile edilmiş Syk, indüklenebilir protein-3'ü (IP-3) ve DAG yolunu aktive eden PLC-ru'yi işe alır ve NF- $\kappa$ B ve NFAT transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna yol açar (Paul ve Lal, 2017). Bu sinyallemenin sonucunda, sitokinlerin ve kemokinlerin yanı sıra sitotoksik moleküllerin NK hücreleri tarafından salınımı gerçekleşir. Aktive edici reseptörlerin hedef hücreler üzerindeki ligandlarla etkileşimi, NK hücresi sitotoksitesini ve yardımcı moleküllerin homo- veya heterodimerleri ile zar-ötesi yüke dayalı ilişki yoluyla sitokinlerin üretimini uyarır. Aksesuar molekülleri, aşağı akış aktivasyon sinyallerine aracılık eden tirozin fosforile (YP) sitoplazmik motiflere (ITAM veya YINM) sinyalleme efektör molekülleri (Syk veya ZAP-70, fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) veya Grb2) alır. Bazı aktive edici reseptör ligandları (örn: NKG2D ligandları, MICA/B ve ULBP), hücrel stres, kanserli transformasyon veya viral enfeksiyon sonucu NK hücre aktivitesini daha da artırır (Purdy ve Campbell, 2009).

#### 4. NK Hücre Aktivitesine Etki Eden Maddeler

##### 4.1. E Vitamini

E vitamini, tokoferoller ve tokotrienoller içeren suda

çözünmeyen bir grup bileşikten meydana gelir. E vitamini içinde yer alan tokoferoller ve tokotrienoller antioksidan işlev gösterir ve anti tümör tepkide önemli olan reaktif oksijen türlerinin oluşumunu bozar. Fareler ile yapılan bir çalışmada tokoferol ile tedavi edilen farelerde, NK hücre aktivitesinde artış ve hücrelerin tümör-litik aktivitesinin yüksek seviyelere ulaştığı görülmüştür. Kolorektal kanser hastaları üzerinde gerçekleştirilen çalışmada yüksek dozda E vitamini alımıyla NK hücrelerindeki litik aktivitenin arttığı gözlenmiştir (Grudzien ve Rapak, 2018).

##### 4.2. Kurkumin

Kurkumin, biyoaktif lipofilik flavonoid polifenolik bir bileşik ve karotenoiddir, Zingiberacea bitki ailesinin üyesidir. Anti-enflamatuar etkileri göz önüne alınarak yapılan hayvan çalışmalarında, bağışıklık hücrelerinin sitolitik fonksiyonlarında artış ve bağışıklık baskılayıcı kanser mikroçevresinde inhibe edici etkiler göstermesi bu bileşiğin önemli bir anti-kanser ajanı olduğu ortaya koymuştur (Pan ve ark., 2019). Kurkuminin tümörlerin büyüme, proliferasyon, invazyon, metastaz, apoptoz, anjiyogenez ve tümör hücrelerinin ilaç direnci gibi çeşitli biyolojik işlevlerini inhibe ettiği tespit edilmiştir. NK hücre sitotoksitesini artırarak tümör immünsupresif mikroçevresini değiştirdiği gösterilmiştir (Wang ve ark., 2020).

##### 4.3. Resveratrol

Resveratrol bağışıklık tepkisini güçlü bir şekilde etkiler ve örneğin NK hücrelerinin aktivitesini modüle eder. Resveratrol, bitki polifenollerinin polihidroksistilben alt sınıfına aittir ve iki izomer, cis- (Z) ve trans- (E) olarak bulunur. Doğuştan gelen bağışıklık sisteminin beslenme kaynaklı bileşiklerle modülasyonu sağlık üzerinde önemli ve değerli bir etkiye sahiptir. Bitkilerde resveratrol, mantar enfeksiyonu, yaralanma veya UV ışınlanmasına yanıt olarak üretilen bir fitoaleksinin (bitki antibiyotik) olarak işlev görür. Düşük resveratrol konsantrasyonları ile yapılan çalışmalarda NK hücrelerinin öldürme aktivitesinde maksimum düzey bildirilmiştir. Resveratrolün anti-enfeksiyöz özelliklerini değerlendirmek için bir murin akut pnömoni modeli kullanılmış ve bunun sonucunda NK hücre aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir (Leischner ve ark., 2016). Resveratrolün bağışıklık fonksiyonunu doza bağlı bir şekilde modüle ettiği ve NK hücrelerini öldürme yeteneği üzerinde doğrudan bir etki yaptığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar insan kronik myeloid lösemi hücreleri olan K562 hücrelerine karşı NK hücrelerinin sitotoksik aktivitesini, düşük resveratrol konsantrasyonunda arttırırken, yüksek konsantrasyonda baskıladığı bulunmuştur (Malaguarnera, 2019).

##### 4.4. Ginseng

Yapılan çalışmalarda ginsenosid fraksiyonu ile tedavinin, NK hücresi sitotoksitesini önemli ölçüde arttırdığını gösterilmiştir. NK hücre efektör fonksiyonunu etkili bir şekilde arttıran ginsenosidler arasında ginsenosid Rg1 (G-Rg1) bulunur. G-Rg1 ile tedavi edilen farelerden alınan splenositler, arttırılmış bir doğal öldürme aktivitesi

göstermiştir. G-Rg1, insan PBMC'lerinin doğal sitotoksitesini ve antikora bağlı hücrel sitotoksitesini (ADCC) de orta derecede artırdığı ortaya çıkarılmıştır. G-Rg1 metabolitlerinden olan G-F1, NK hücrelerinin degranülasyonunu güçlü şekilde artırdığı bulunmuştur. G-F1'in, hem ITAM hem de ITAM ile bağlanmayan reseptörler gibi çeşitli aktive edici reseptörler yoluyla NK hücre sitotoksitesini artırdığı, böylece NK aktive edici reseptörler için heterojen ligandları eksprese eden farklı kanser hücrelerine karşı NK hücresi sitotoksitesinin potansiyelinin yükseldiği kanıtlanmıştır (Kwon ve ark., 2018).

#### 4.5. Krisin

Krisin (5,7-dihidroksiflavone), bitkilerde yaygın olarak bulunan doğal bir flavonoiddir ve çeşitli kanserlere karşı antikanser özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Liu ve ark., 2013). Krisinin, WEHI-3 lökemik BALB/c farelerde splenositlerin NK hücre aktivitesini teşvik ettiği bununla birlikte krisin uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) gruplarından lökositler izole edilmiş ve NK hücre aktivitesi ölçülerek, YAC-1 hedef hücrelerinin NK hücreleri tarafından önemli ölçüde yok edildiğini bulunmuştur (Lin ve ark., 2012).

#### 4.6. C Vitamini

Canlılar için esansiyel özellikte olan C vitamini, antikor sentezi, kemik, kırık ve bağ doku oluşumu ve işlevlerinin devamı için kritik öneme sahiptir. C vitamini, amino asit ve karbohidrat metabolizmasında, steroid ve hemoglobin sentezinde, oksidatif strese karşı dirençte, kanın pıhtılaşması gibi süreçlerde görev almaktadır (Konca ve Yazgan, 2002).

Talasemi, hemoglobin  $\alpha$  veya  $\beta$  zincirlerinde gelişme bozukluğu ile karakterize kalıtsal bir anemi çeşididir. Bu sendromun nedeni,  $\alpha$  ya da  $\beta$ -globulin genlerin anlatımının azalması veya yok olmasıdır.  $\beta$ -globulin zincirinin eksikliği, eritroblastlarda  $\alpha$ -globulin birikmesine ve takiben de hemolize yol açmaktadır (Atasever ve ark., 2006). NK aktivitesi açısından incelendiğinde  $\beta$ -Talasemi hastalarında düşük NK aktivitesi gözlenmektedir. Ek olarak,  $\beta$ -Talasemi hastalarında NKp30 reseptörleri ve IL30, TGF $\beta$ 1 ve IL15 sitokin sekresyonlarının değiştiği gösterilmiştir (Bekaroğlu ve Arslan, 2014). Bu immünolojik durumun altında yatan mekanizma net olmamakla beraber, yapılan çalışmalar desferrioksamin, 2,3-dihidroksibenzoik asit ve Vitamin C'nin NK aktivitesini artırdığını göstermiştir (Atasever ve ark., 2006; Atasever Arslan ve ark., 2013).

### 5. Tartışma ve Sonuç

Günümüzün en önemli hastalıklarından biri olan kanserin tedavisinde uygulanan kemoterapinin tümör hücrelerini öldürmenin yanı sıra immün sistemde görevli sağlıklı hücrelere de zarar verdiği bilinmektedir. Bu durum hastanın immün sisteminin zayıflamasına ve diğer enfeksiyonlara karşı daha hassas hale gelmesine neden olmaktadır. Kemoterapiye alternatif olabilecek ve kişiye özel tedavi olarak tanımlanan immünoterapi yönteminde, NK hücrelerinin doğuştan sahip oldukları sitotoksik

aktivitesinin modifiye edilerek artırılması amaçlanmaktadır. Bu yöntem ile tümörün oluşumu ve metastastazi erken aşamada durdurularak kansere karşı bir immün tepki oluşturulabilecektir. Literatürdeki mevcut çalışmalar incelendiğinde NK hücre aktivitesinin artırıcı yönde modülasyonu ile ilgili yapılan çalışmalar umut vericidir. Ancak aktive ve/veya inhibe edici reseptörlerin sinyal mekanizmaları ile ilgili yeterli bilgi bulunmamaktadır. Etken moleküllerin NK hücrelerindeki sinyal yollarının ve hedef proteinlerinin belirlenmesi ve etki mekanizmalarının moleküler ve mekanistik düzeyde anlaşılması, önleyici tıp ve kişiye özgü tedavi için ilaç potansiyellerinin anlaşılabilmesi için önem arz etmektedir. Farklı molekül kombinasyon çalışmalarının yapılması bu moleküllerin sinerjistik ve antagonistik etkilerinin anlaşılabilmesine yarar sağlayacağı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, elde edilecek yeni bilgiler ışığında, diğer kanser tedavi yöntemlerine kıyasla NK hücrelerinin immünoterapi yönteminin daha etkili ve kişiye özel roller üstlenerek kanser tedavisine yeni bakış açısı oluşturabileceği düşünülmektedir.

#### Katkı Oranı Beyanı

Tüm yazarlar eşit oranda katkıya sahiptir. Tüm yazarlar makaleyi inceledi ve onayladı.

#### Çatışma Beyanı

Yazarlar bu çalışmada hiçbir çıkar ilişkisi olmadığını beyan etmektedirler.

#### Kaynaklar

- Abel AM, Yang C, Thakar MS, Malarkannan S. 2018. Natural killer cells: Development, maturation and clinical utilization. *Front Immunol*, 9: 1869.
- Arslan BA, Timucin AC. 2020. Immunotherapy approaches on innate immunity for SARS-Cov-2. *Acta Virol*, 64(4): 389-395.
- Atasever B, Ertan NZ, Erdem-Kuruca S, Karakas Z. 2006. In vitro effects of vitamin c and selenium on nk activity of patients with  $\beta$ -Thalassemia major. *Pediatr Hematol Oncol*, 23: 187-197.
- Atasever Arslan B, Erdem-Kuruca S, Karakas Z, Erman B, Ergen A. 2013. Effects of micro environmental factors on natural killer activity (NK) of Beta Thalassemia major patients. *Cellular Immunol*, 282: 93-99.
- Bekaroğlu MG, Arslan BA. 2014. Natural killer (NK) cells in  $\beta$  Thalassemia major patients. *JSM Biotechnol Bioeng*, 2(2): 1040.
- Berrien-Elliott MM, Romee R, Fehniger TA. 2015. Improving natural killer cell cancer immunotherapy. *Curr Opin Organ Transplant*, 20(6): 671-680.
- Bi J, Tian Z. 2019. NK cell dysfunction and checkpoint immunotherapy. *Front Immunol*, 10: 1999.
- Bowen KE, Mathew SO, Borgmann K, Ghorpade A, Mathew PA. 2018. A novel ligand on astrocytes interacts with natural cytotoxicity receptor NKp44 regulating immune response mediated by NK cells. *PLoS One*, 13(2): e0193008.
- Castriconi R, Cantoni C, Chiesa MD, Vitale M, Marcenaro E, Conte R, Biassoni R, Bottino C, Moretta L, Moretta A. 2003. Transforming growth factor  $\beta$ 1 inhibits expression of NKp30 and NKG2D receptors: Consequences for the NK-mediated killing of dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100(7): 4120-4125.

- Cichocki F, Miller JS. 2019. Setting traps for NKG2A gives NK cell immunotherapy a fighting chance. *J Clin Invest*, 129(5): 1839-1841.
- Cheng M, Chen Y, Xiao W, Sun R, Tian Z. 2013. NK cell-based immunotherapy for malignant diseases. *Cell Mol Immunol*, 10(3): 230-252.
- Cifaldi L, Doria M, Cotugno N, Zicari S, Cancrini C, Palma P, Rossi P. 2019. DNAM-1 Activating Receptor and Its Ligands: How Do Viruses Affect the NK Cell-Mediated Immune Surveillance during the Various Phases of Infection ?. *Int J Mol Sci*, 20(15): 3715.
- Frutoso M, Mortier E. 2019. NK cell hyporesponsiveness: More is not always better. *Int J Mol Sci*, 20(18): 4514.
- Grudzien M, Rapak A. 2018. Effect of natural compounds on NK cell activation. *J Immunol Res*, 2018: 4868417.
- Gwalani LA, Orange JS. 2018. Single degranulations in NK cells can mediate target cell killing. *J Immunol*, 200(9): 3231-3243.
- Khan M, Arooj S, Wang H. 2020. NK cell-based immune checkpoint inhibition. *Front Immunol*, 11: 167.
- Kim N, Kim HS. 2018. Targeting checkpoint receptors and molecules for therapeutic modulation of natural killer cells. *Frontiers in Immunol*, 9: 2041.
- Konca K, Yazgan O. 2002. Yumurta tavuklarında sıcaklık stresi ve vitamin C. *Hayvansal Üretim*, 43(2): 16-25.
- Kumar S. 2018. Natural killer cell cytotoxicity and its regulation by inhibitory receptors. *Immunol*, 154(3): 383-393.
- Kwon HJ, Lee H, Choi GE, Kwon SJ, Song AY, Kim SJ, Kim HS. 2018. Ginsenoside F1 promotes cytotoxic activity of NK cells via insulin-like growth factor-1-dependent mechanism. *Front Immunol*, 9: 2785.
- Leischner C, Burkard M, Pfeiffer MM, Lauer UM, Busch C, Venturelli S. 2016. Nutritional immunology: function of natural killer cells and their modulation by resveratrol for cancer prevention and treatment. *Nutr J*, 15: 47.
- Lin CC, Yu CS, Yang JS, Lu CC, Chiang JH, Lin JP, Chung JG. 2012. Chrysin, a natural and biologically active flavonoid, influences a murine leukemia model in vivo through enhancing populations of T- and B-cells, and promoting macrophage phagocytosis and NK cell cytotoxicity. *In Vivo*, 26(4): 665-670.
- Liu H, Liu K, Huang Z, Park CM, Thimmegowda NR, Jang JH, Lee KW. 2013. A chrysin derivative suppresses skin cancer growth by inhibiting cyclin-dependent kinases. *J Biol Chem*, 288(36): 25924-25937.
- Long EO, Kim HS, Liu D, Peterson ME, Rajagopalan S. 2013. Controlling NK cell responses: Integration of signals for activation and inhibition. *Annu Rev Immunol*, 31: 227-258.
- Mahaweni NM, Ehlers FA, Bos GM, Wieten L. 2018. Tuning natural killer cell anti-multiple myeloma reactivity by targeting inhibitory signaling via KIR and NKG2A. *Front Immunol*, 9: 2848.
- Malaguarnera L. 2019. Influence of resveratrol on the immune response. *Nutrients*, 11(5): 946.
- McWilliams EM, Mele JM, Cheney C, Timmerman EA, Fiazuddin F, Strattan EJ, Awan FT. 2016. Therapeutic CD94/NKG2A blockade improves natural killer cell dysfunction in chronic lymphocytic leukemia. *Oncimmunol*, 5(10): e1226720.
- Meza-Guzman LG, Keating N, Nicholson SE. 2020. Natural killer cells: Tumor surveillance and signaling. *Cancers (Basel)*, 12(4): 952.
- Miller JS. 2001. The biology of natural killer cells in cancer, infection, and pregnancy. *Experiment Hematol*, 29(10): 1157-1168.
- Narni-Mancinelli E, Chaix J, Fenis A, Kerdiles YM, Yessaad N, Reynders A, Gregoire C, Lucche H, Ugolini S, Tomasello E, Walzer T, Vivier E. 2011. Fate mapping analysis of lymphoid cells expressing the Nkp46 cell surface receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 8(45): 18324-18329.
- Nayyar G, Chu Y, Cairo MS. 2019. Overcoming resistance to natural killer cell based immunotherapies for solid tumors. *Front Oncol*, 9: 51.
- Netter P, Anft M, Watzl C. 2017. Termination of the activating NK cell immunological synapse is an active and regulated process. *J Immunol*, 199(7): 2528-2535.
- Orr MT, Lanier LL. 2010. Natural killer cell education and tolerance. *Cell*, 142(6): 847-856.
- Pallmer K, Barnstorff I, Baumann NS, Borsa M, Jonjic S, Oxenius A. 2019. NK cells negatively regulate CD8 T cells via natural cytotoxicity receptor (NCR) 1 during LCMV infection. *PLoS Pathog*, 15(4): e1007725.
- Pan P, Huang YW, Oshima K, Yearsley M, Zhang J, Arnold M, Wang LS. 2019. The immunomodulatory potential of natural compounds in tumor-bearing mice and humans. *Critical Rev Food Sci Nutri*, 59(6): 992-1007.
- Paul S, Lal G. 2017. The Molecular mechanism of natural killer cells function and its importance in cancer immunotherapy. *Front Immunol*, 8: 1124.
- Pazina T, Shemesh A, Brusilovsky M, Porgador A, Campbell KS. 2017. Regulation of the functions of natural cytotoxicity receptors by interactions with diverse ligands and alterations in splice variant expression. *Front Immunol*, 8: 369.
- Purdy AK, Campbell KS. 2009. Natural killer cells and cancer: regulation by the killer cell Ig-like receptors (KIR). *Cancer Biol Ther*, 8(23): 13-22.
- Sarhan D, Cichocki F, Zhang B, Yingst A, Spellman SR, Cooley S, Miller JS. 2016. Adaptive NK cells with low TIGIT expression are inherently resistant to myeloid-derived suppressor cells. *Cancer Res*, 76(19): 5696-5706.
- Shifrin N, Raulet DH, Ardolino M. 2014. NK cell self tolerance, responsiveness and missing self recognition. *Semin Immunol*, 26(2): 138-144.
- Siewiera J, Gouilly J, Hocine HR, Cartron G, Levy C, Al-Daccak R, Jabrane-Ferrat N. 2015. Natural cytotoxicity receptor splice variants orchestrate the distinct functions of human natural killer cell subtypes. *Nat Commun*, 6: 10183.
- Silva-Santos B, Strid J. 2018. Working in NK mode: natural killer group 2 member d and natural cytotoxicity receptors in stress-surveillance by  $\gamma\delta$  T cells. *Front Immunol*, 9: 851.
- Sun C, Sun H. 2019. The rise of NK cell checkpoint inhibitors as promising therapeutic targets in cancer immunotherapy. *Front Immunol*, 10: 2354.
- Vitale M, Sivori S, Pende D, Augugliaro R, Di Donato C, Amoroso A, Malnati M, Bottino C, Moretta L, Moretta A. 1996. Physical and functional independency of p70 and p58 natural killer (NK) cell receptors for HLA class I: their role in the definition of different groups of alloreactive NK cell clones. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93(4):1453-1457.
- Yin X, Liu T, Wang Z, Ma M, Lei J, Zhang Z, Han X. 2018. Expression of the inhibitory receptor TIGIT is up-regulated specifically on NK cells with CD226 activating receptor from HIV-infected individuals. *Front Immunol*, 9: 2341.
- Wang Y, Lu J, Jiang B, Guo J. 2020. The roles of curcumin in regulating the tumor immunosuppressive microenvironment. *Oncol Lett*, 19(4): 3059-3070.