



<sup>1</sup> Recep ERÖZ

<sup>2</sup> Ahmet KARATA

<sup>3</sup> Ozan Alper ALKOÇ

<sup>4</sup> Davut BALTACI,

<sup>5</sup> Murat OKTAY

<sup>3</sup> Serdar ÇOLAKO LU

<sup>1</sup> Düzce Üniversitesi, Tıp  
Fakültesi, Tıbbi Genetik  
Anabilim Dalı

<sup>2</sup> Düzce Üniversitesi, Tıp  
Fakültesi, Kadın Hastalıkları  
ve Do um Anabilim Dalı

<sup>3</sup> Düzce Üniversitesi, Tıp  
Fakültesi, Anatomi Anabilim  
Dalı

<sup>4</sup> Düzce Üniversitesi, Tıp  
Fakültesi, Aile Hekimliği  
Anabilim Dalı

<sup>5</sup> Düzce Üniversitesi, Tıp  
Fakültesi, Patoloji Anabilim  
Dalı

Submitted/Ba vuru tarihi:

04 04 2012

Accepted/Kabul tarihi:

17 04 2012

Registration/Kayıt no:

12 03 214

**Corresponding Address**

**/Yazı ma Adresi:**

Dr. Recep Eröz (Ph D)  
Düzce Üniversitesi, Tıp  
Fakültesi, Tıbbi Genetik  
Anabilim Dalı-Düzce  
E-mail:  
receperez@duzce.edu.tr

© 2012 Düzce Medical Journal  
e-ISSN 1307- 671X  
www.tipdergi.duzce.edu.tr  
duzcetipdergisi@duzce.edu.tr

**Apoptozis Hakkında Bilinenler (Literatür Taraması)**

**The Known About Apoptosis (Review of the Literature)**

**ÖZET**

Canlı organizmalarda organogenezisten, çe itli hastalıklara kadar birçok mekanizmada rol alan apoptozis, en çok dikkat çeken ve üzerinde çok sayıda ara tırmaların yapıldı ı bilinmesi gereken önemli bir mekanizmadır. Biz bu derlemede apoptozis ile ilgili bilinenleri okuyuculara sunmaya çalıştık.

**Anahtar Kelimeler:** Apoptozis, programlanmış hücre ölümü, kaspaz, apoptozisin özellikleri

**ABSTRACT**

It is necessary to be known that the mechanism of apoptosis which have a role part from organogenesis to different diseases is the most attract attention and performed most study on it. In this review, we are presenting the known about apoptosis to readers.

**Key Words:** Apoptosis, programmed cell death, caspase, features of apoptosis

**1. GİRİŞ**

Bilindi i gibi apoptozis, organizmalarda sıkı bir ekilde korunmu oldu u kabul edilen doku embriyogenezis ve organizmaların ekillenmesinden çe itli hastalıklara kadar birçok mekanizmada önemli rol almaktadır. Bu denli önemli bir mekanizma olan apoptozis ile ilgili birçok çalı ma yapılmasına rağmen mekanizması çok açık de ildir ve bu konuda bilinenlerin oldukça ba langıcında olduğu dü ünülmektedir. Bu konuda daha fazla bilgi edinilebilmesi için hala yo un olarak çalı malar yapılmakta ve eksiklikler giderilmeye çalışılmaktadır. Bu nedenle bu denli önemli olan bir mekanizma konusunda yapılan ara tırmalar sonucu elde edilen bilgilerin ara tırmacılara duyurulması için literatür taraması sonucu elde etti imiz bilgileri Türkçeye çevrilmi halde okuyuculara sunmak amacıyla bu çalı mayı yaptık. Böylece organizmalar için oldukça önemli olan bu mekanizmayla ilgili birçok bilgiyi içeren Türkçeye çevrilmi bu literatür taramasının apoptozis hakkında bilinenleri okuyuculara sunaca ı gibi daha sonraki yapılacak ara tırmalarda da büyük rehber olaca ını dü ünüyoruz.

**2. APOPTOZİS**

Apoptozis kavramının belirli komponentleri açıkça çok önceden tanımlanmış olmasına rağmen, apoptozis terimi (a-po-toe-sis) ilk olarak Kerr, Wyllie ve Currie tarafından 1972'de, hücre ölümünün morfolojik bir formunu tanımlamak için klasik bir yazıda kullanılmıştır (1,2). Programlanmış hücre süreci ya da apoptozis genel olarak belirli morfolojik özellikler ile karakterize edilen, enerji ba ımlı biyokimyasal bir mekanizmadır. Apoptozis normal hücre turnover'ı, normal gelişim, immün sistem fonksiyonu, hormon ba ımlı atrofi, embriyonik gelişim ve kimyasal olarak uyarılmış hücre ölümünü içeren çe itli i lemlerin hayati komponenti olarak göz önünde bulundurulmaktadır. Uygun olmayan apoptozis (çok az/fazla) nörodejeneratif hastalıklar, iskemik zarar, otoimmün rahatsızlıklar ve birçok kanser tipini kapsayan bir faktör olarak kar ımıza çıkmaktadır (3). Memeli hücrelerindeki apoptozis i leminin kapsadığı mekanizmalar Caenorhabditis elegans nematodunun gelişim süresince meydana gelen programlanmış hücre ölümü mekanizmalarını kapsamaktadır (4). Bu organizmada erik kurdu olumu için 1090 somatik hücre gereklidir, bu hücrelerin 131'i apoptozis ya da programlanmış hücre ölümünü geçirir. Bu hücreler, bu sistem içerisinde dikkate değer bir uygunluk ve kontrol altında, kurtlar arasında temel olarak de i meyen gelişim sürecince farklı noktalarda ölürlür. Apoptozis bu yüzden hücrelerin

genetik olarak belirlenmiş eliminasyonunu içeren programlanmış hücre ölümünün önemli ve ayırt edici bir modu olarak tanımlanır ve kabul edilir. Bununla beraber programlanmış hücre ölümünün tanımlanmış olan ve henüz kefedilmemiş olan diğer formlarının da göz önünde bulundurulması önem arz etmektedir (5-7).

Apoptozis normal olarak gelişim, yaşlanma ve dokulardaki hücrelerin devamını sağlamak için bir homeostatik mekanizma olarak karşımıza çıkabileceği gibi, aynı zamanda hastalık ya da zararlı ajanlar tarafından hücreler zarar gördüğünde ya da immün reaksiyonlar gibi bir savunma mekanizması olarak da olabilir (8).

Normal dokularda hücrelerin, dokunun genel fonksiyonları etkilenmedikçe hızlı bir şekilde elimine edilmesine gerek yoktur. Bu süreçte hücreler programlanmış hücre ölümü olarak adlandırılan aktif ve spontan intiharlar üstlenir. Gerçekte, fizyolojik hücrelerin çoğunluğu apoptozis formunu alır. Nekroze zıt olarak apoptozis bir hücrenin aktif olarak belirli uyarıcıları alması ile ölüme doğrudan yolu gösterir (9).

Hücrenin apoptoz veya nekroza gidip gitmeyeceği uyarıcı tipi ve/veya uyarıcı derecesi ile belirlenir. Sıcaklık, radyasyon, hipoksi ve sitotoksik antikanser ilaçları gibi çeşitli zararlı uyaranlar düşük dozlarda apoptozisi indükleyebilir fakat bu benzer uyaranlar yüksek dozlarda nekroze neden olabilir. Sonuç olarak apoptozis kaspazlar olarak adlandırılan bir grup sistein proteazların aktivasyonunu ve hücrelerdeki başlangıç uyaranlarına bağlı kompleks ve koordine edilmiş kaskat olaylarını kapsayan çoğunlukla enerji bağımlı bir süreçtir (3). Bu süreç belirli fazları içeren basamaklardan oluşur.

### 3. APOPTOTİK ÖLÜM BASAMAKLARI

Apoptotik hücre ölümü başlama fazı, sinyal fazı, idam fazı ve gömme/defin fazı basamaklarından oluşur (10).

#### 3.a. Başlama (Tetikleme) Fazı

Apoptotik hücre ölümünün başlangıç aşamasıdır. Bu aşamada rol alan çeşitli moleküller belirlenmiştir. Fas ligant (FasL) ve tümör nekrozis faktörü (TNF-a), apoptozisin prototipik indükleyicileridir. Bu ligantlar belirli reseptör kümelerini indükler (Fas, TNFR I ya da TNFR II), bu da başlangıçtaki sinyal iletim moleküllerinin aktivasyonuna neden olur. Fas/FasL sistemi en iyi çalışılmış reseptör aracılı apoptotik yoldur. Bir sistemin zengin ekstrasellüler domainli tip I transmembran proteini olan Fas/Apo-1/CD95'de tümör nekrozis faktörü reseptörü (TNFR) süper ailesinin bir üyesidir (11).

#### 3.b. Sinyal Fazı

Apoptozis süreci boyunca sinyal iletim mekanizması önemli yer tutmaktadır. Bu faz, çeşitli kinazların rol aldığı protein kinaz kaskatından oluşmaktadır. Apoptoziste anahtar rol oynadığı öne sürülen protein kinazların çoğunluğu serin/threonin tipindedir. Mitojenle uyarılmış protein kinaz (MAPK) ailesinden özellikle p42/44 ERK, p38 MAPK ile c-Jun N-terminal kinaz (JNK), siklik AMP-bağımlı protein kinaz A (PKA), protein kinaz B (PKB), Akt ve protein kinaz C (PKC)'de bu basamakta rol alan kinazlardır (12,13).

#### 3.c. İnfaz Fazı

Apoptozis sürecinde hücre ölüm kararının alındığı

basamaktır. Bu basamakta rol alan, kaspazlar olarak bilinen hücre ölüm proteazları, farklı türlerdeki apoptotik programların integral bileşenleridir (14,15). Başlangıçta inaktif prekürsörler (zimojen) olarak sentezlenen kaspazlar, aktif enzim olarak proteolitik süreçler tarafından aktive edilirler. Bazı hastalarda N-terminal "pro-domain" daha sonra otokataliz ile uzaklaştırılır. Hayvanlar alemindeki apoptotik program süresince kaspazların fonksiyonel korunumu hücre ölüm kararını etkilemek için onları olası hedefler yapar. Memeli hücrelerinde, kaspazların aktivasyonu, farklı kaspazlar tarafından başlatılan en az iki başlımsız mekanizma vasıtasıyla başlatılabilir, fakat genel olarak cellat kaspazların aktivasyonuna yol açar. Örneğin, sitokin reseptörlerinin TNF ailesinin çeşitli üyeleri, kaspaz-8'in sistolik domainlerini sitokin ligantlarına bağlar, bu da proksimal kaspazın proteolitik aktivasyonuna neden olur (16). Kaspaz-8, bir kez aktive edildiğinde indirekt ya da direkt olarak kaspaz-3, -6 ve -7'nin (CD95 tip I hücreler) bir grubunun aktivasyonunu indükleyebilir (17). Kaspaz aktivasyonunun diğer bir yolu apoptozis süresince (CD95 tip II hücreleri) memeli hücrelerinde mitokondriden sitozole sitokrom c'nin sık sık salınmasıdır (18). Ölüm reseptör sinyali Bcl-2 inhibe edici yola bağlanır. Proapoptotik düzenleyicilerin "BH3-only" ailesine ait olan ve BCL-2 ailesinin bir üyesi olan BID (BCL-2 etkileme domaini) aktif kaspaz-8 tarafından parçalanarak Bax'ın hedef mitokondrinin membranı ile oligomerizasyonuna ve sitokrom c salınımına neden olmaktadır. Serbest bırakılan sitokrom-c bir sistolik protein olan Apaf-1'e bağlanır. Bu Apaf-1 oligomerizasyonunu, Apaf-1 "apoptozom" alınımını ve prokaspaz-9'un aktivasyonunu indükler. Aktif olan kaspaz-9 daha sonra apoptotik ölümü düzenleyen hücrelerde anahtar substrat rolü oynayan infaz prokaspaz-3'ü aktive eder (19).

#### 3.d. Gömme (Defin) Fazı

Bu basamak apoptotik cisimciklerin, onu çevreleyen parenkimal hücreler ya da fagositler tarafından fagosite edilerek ortadan kaldırılması işlemlerini kapsamaktadır (20).

### 4. APOPTOZİSİN MEKANİZMASI

Apoptozis mekanizması oldukça kompleks ve karmaşık enerji bağımlı moleküler kaskat olaylarını içermektedir. Yapılan araştırmalar ekstrensek ve intrinsek ya da mitokondrial yol olarak iki ana apoptotik yolunun olduğunu, bu iki yolun birbiri ile bağlantılı olduğunu ve bir yolda rol alan moleküllerin diğer yoldakini etkilediğini göstermiştir (21). Bu iki yola ilave olarak T-hücre aracılı sitotoksikiteyi ve perforin-granzim bağımlı hücre ölümünü içeren bir yol daha vardır (22).

Apoptozisin birçok irritasyon ajanları tarafından çeşitli hücrelerde indüklendiği, fakat kesin mekanizmanın hala açık olmadığı bildirilmiştir. Hücre yaralanmaları, TNF reseptörü, Fas reseptörü (öldürücü sinyal reseptörü olarak adlandırılan) ve IL-3 ve eritropoetin gibi sinyallerin devamlılığını sağlayan sitokinlerin yokluğunun aracılık ettiği radyasyon ve anti kanser ilaçlar gibi DNA hasarına neden olan ajanlar tarafından apoptozis indüklenir. Tümör süpresör geni p53, DNA hasarı ile indüklenen apoptoziste

çok önemli bir rol oynar ve bunlar p53 knockout farede elde edilen hücreler ile yapılan apoptozise direnç çalımları ile gösterilmiştir (23).

#### 4.a. Ekstresek Yol

Apoptozisi transmembran reseptör aracılı etkileşimlerle başlayan yol ekstrinsek ya da ölü reseptör yoludur. Bu sinyal yolunda TNF reseptör gen süper ailesinin üyeleri olan ölüm reseptörlerini içeren transmembran reseptörleri rol almaktadır. TNF reseptör ailelerinin üyeleri birbirine benzer sistenince zengin ekstrasellüler domainler içerir ve öldürücü domain olarak adlandırılan yaklaşık 80 aminoasitlik bir sitoplazmik domaine sahiptirler (24).

Bu domainler hücre yüzeyinden hücre içi sinyal yoluna öldürücü sinyalin aktarılmasında kritik bir rol oynarlar. Ligand ve onların karılıklı olan öldürücü reseptörler FasL/FasR, TNF- $\alpha$ /TNFR1, Apo3L/DR3, Apo2L/DR4 ve Apo2L/DR5'i içermektedir (24-28). Apoptozisin ekstrinsek fazını tanımlayan olayların olu sırası en iyi şekilde FasL/FasR ve TNF- $\alpha$ /TNFR1 modelleri ile karakterize edilir. Bu modellerde, reseptörler ve homolog trimerik ligandların ba lanması kümeler vardır. Ligand ba lanması nda, sitoplazmik adaptör proteinler reseptörlere ba lanması uygun öldürücü domainlerin olu umunu göstermektedir. Fas ligandının Fas reseptörüne ba lanması, Fas reseptörünün Fas ili kili ölüm domainine (FADD) ba lanmasına, TNF ligandının TNF reseptörüne ba lanması ise FADD ve reseptör interaktif protein (RIP) birimleri ile adaptör TNFR-1 ili kili ölüm domaini (TRADD) proteininin ba lanmasına yol açar (29,30). FADD daha sonra öldürücü efektör domaininin dimerizasyonu aracılı ı ile prokaspaz 8 ile birleşir. Bu noktada bir öldürücü sinyal kompleksi (DISC) olu urak bu prokaspaz 8'in oto katalitik aktivasyonuna yol açar (31).

Kaspaz-8 bir kez aktive olunca, apoptozisin uygulama fazı tetiklenir. Öldürücü reseptör aracılı apoptozis, FADD ve kaspaz-8'e ba lanacak olan c-FLIP olarak adlandırılan bir protein tarafından inhibe edilir (18,32).

#### 4.b. Perforin/granzim Yolu

Perforin/granzim yolu granzim B ya da granzim A ile apoptozisi indükleyebilir. Ekstresek, intrinsek ve granzim B yolu aynı uçta ya da infaz yolunda odaklanabilir. Bu yol kaspaz-3'ün parçalanması ile ba latılabilir ve DNA'nın fragmentasyonunu, hücre iskeleti ve çekirdek proteinlerinin parçalanmasını, proteinlerin çapraz ba lanmasını, apoptotik yapıların olu umunu, fagositik hücre reseptörleri için ligandların ekspresyonunu ve sonuç olarak fagositik hücreler tarafından yutulma basamaklarını içermektedir. Granzim A yolu tek iplikli DNA hasarı aracılı ıyla paralel olan, kaspaz ba ımlı hücre ölüm yolunu aktive eder (22). Sitotoksik T lenfositler (CTLs) konakçı hücre yüzeyindeki antijenleri tanırlar ve bu sırada yüzeylerinde Fas ligand olu turarak hedef hücrenin Fas reseptörüne tutunurlar. CTL'ler sitoplazmalarında granzim B (serin proteaz) ve perforin adı verilen, apoptozisin olu masını sağlayan proteinler içeren sitoplazmik granüllere sahiptirler (33). Bu CTL'ler, perforin ile porlar olu turarak hedef hücrelerde kaspazları aktive edecek olan granzim B salgırlar ve böylece perforinin salınımını içeren yeni bir yol aracılı ı ile tümör hücresi ve virüs tarafından enfekte edilmi hücre

üzerinde sitotoksik etkilerini uygulayabilirler (34). Granzim A'da aynı zamanda apoptozisi uyaran ve kaspaz ba ımsız yolu aktive eden sitotoksik T hücrelerinde de önemlidir. Hücrede bir kez granzim A, DNAAz NM23-H1 aracılı ı ile DNA nicking'i aktive etti inde bir tümör süpressör gen üretilir (35).

Nükleozomda toplanan endoplazmik retikulum ili kili (SET) proteinler, normal olarak NM23-H1 genini inhibe eder. Granzim A proteaz SET kompleksini parçalar böylece NM23-H1'in inhibisyonunu serbest bırakır bu da apoptotik DNA parçalanmasına yol açar (36).

#### 4.c. intrinsek Yol

Do rudan hücre içi reseptörlere etki eden reseptörlerden ba ımsız olarak uyarının farklı bir düzenini içeren yola intrinsek ya da mitokondrial yol adı verilmektedir. Apoptozisi ba lanması intrinsek sinyal yolu; mitokondrial-ba lı olaylar olan, hücre içerisindeki hedeflerle direkt etkileşimde olan ve hücre içi sinyaller üreten, reseptör olmayan uyarıların aracılık ettiği bir dizi olayları içermektedir. intrinsek yolu ba lanması uyarıcı, pozitif ya da negatif biçimde rol alabilir. Negatif sinyaller, ölüm programının baskılanmasının ba arısız olmasına neden olabilecek olan belirli büyüme faktörleri, hormonlar ve sitokinlerin olmadığı durumları içerir ve apoptozisi tetikler. Radyasyon, toksinler, hipoksi, hipertermi, viral enfeksiyonlar ve serbest radikaller gibi di er uyarımlar pozitif sinyaller olarak rol almaktadır. Bu uyarımların tamamı mitokondrial permeabilite geçi poru (MPT)'nin açılmasına, mitokondrial transmembran potansiyeli ve sitozolün iç membran bo lu undan normal olarak izole edilmi proapoptotik proteinlerin iki ana grubunun salınımına yol açan iç mitokondrial membranda de i ikliklere neden olabilir (37). İlk grup sitokrom c, Smac/DIABLO, ve serin proteaz HtrA2/Omi'den olu ur (38). Sitokrom c bir apoptozom olu turan prokaspaz-9'a ilave olarak Apaf-1'i aktive eder ve ba lar (39). Bu şekilde prokaspaz-9'un kümeleşmesi kaspaz 9 aktivasyonuna yol açar. Apoptozis protein inhibitörleri (IAP) (inhibitors of apoptosis proteins) aktivitesi ile Smac/DIABLO ve HtrA2/Omi'nin apoptozisi ilerletti i açıklanmıştır (40).

Proapoptotik proteinlerin ikinci grubu, apoptozis süresince mitokondrilerden salınan AIF, endonükleaz G ve CAD'dır ancak bu hücrenin ölümünden sonra olu an bir olaydır. AIF çekirde e transloke edilir ve DNA'nın 50-300kb'lik parçalara bölünmesine ve periferik çekirdek kromatininin kondensasyonuna yol açar (41). Proteinlerden Bcl-2 ailesi mitokondrial membran geçirgenli ini kontrol eder ve pro-apoptotik ya da anti apoptotiklerin her ikisinde olabilir. u ana kadar Bcl-2 ailesinden total 25 tane gen tanımlanmıştır. Anti apoptotik proteinlerden bazıları Bcl-2, Bcl-x, Bcl-XL, Bcl-XS, Bcl-w, BAG'ı içerirken pro-apoptotik proteinlerden bazıları Bcl-10, Bax, Bak, Bid, Bad, Bim, Bik ve Blk'i içerir. Bu proteinler özel öneme sahiptirler, çünkü onlar apoptozisi ba latabilir ya da sonlandırabilir. Proteinlerden Bcl-2 ailesinin aktivasyonunun ana mekanizması, mitokondrial membran geçirgenli inin de i imi ile mitokondriden serbest bırakılan sitokrom c'nin düzenlenmesidir. (42,43).

lave olarak Bcl-2 ve Apaf-1de gösterilen bir protein “Aven” in her ikisini baylayarak prokaspaz-9’un aktivasyonunu önlediğini belirlenmiştir (44). Puma ve Noxa, Bcl-2 ailesinin iki üyesidir ve bunlar pro-apoptozis mekanizmasında da rol alırlar. Puma p-53 aracılı apoptoziste önemli bir rol oynar. (45). Noxa’da aynı zamanda p53 tarafından indüklenen apoptozis için aday bir araçtır. Çalımlar, bu proteinin mitokondriye lokalize olabileceğini ve kaspaz-9’un aktivasyonuna yol açan anti-apoptotik Bcl-2 ailesi ile etkileşime girebileceğini göstermiştir (46). Puma ve Noxa’nın her ikisinin de p53 tarafından indüklenmesi nedeniyle, bunlar genotoksik hasar ya da onkogen aktivasyonu ile oluşan apoptozise aracılık edebilirler. Miyelositomatozis onkogen (Myc) onkoproteininin de aynı zamanda p53 bağımlı ve bağımsız mekanizmanın her ikisinde de apoptozisi artırma yeteneğinde olduğu bildirilmiştir (47).

#### 4.d. İnfaz Yolu

İnfaz yolu ekstrinsik ve intrinsik yolun her ikisinin sonunda yer alan apoptozisin sonuncu yoludur. Apoptozisin bu yolunun başlaması infazcı kaspazlarının aktivasyonu ile gerçekleşir. İnfazcı kaspazlar çekirdek materyalini parçalayan sitoplazmik endonükleaz ile çekirdek ve hücre iskeleti proteinlerini parçalayan proteazları aktive eder. Etkin ya da cellat kaspazlar olarak fonksiyon gören Kaspaz-3, Kaspaz-6, ve Kaspaz-7; sitokeratinler, Poli ADP riboz polimeraz (PARP), plazma membran hücre iskelet proteinini alfa fodrin, çekirdek proteinini NuMA ve diğer proteinleri içeren çeşitli substratları parçalar ve bu da apoptotik hücrelerde görülen morfolojik ve biyokimyasal değişikliklere neden olur (48).

Kaspaz-3 en önemli cellat kaspaz olarak bilinir ve bağımlı kaspazların (kaspaz-8, kaspaz-9 ya da kaspaz-10) herhangi biri ile aktive edilir. Kaspaz-3 spesifik olarak endonükleaz CAD’ı aktive eder. Çoğu hücrelerde CAD inhibitörü olan ICAD ile kompleks oluşturur. Apoptotik hücrelerde, aktive edilmiş kaspaz-3, ICAD’ı parçalar ve CAD’ı serbest bırakır (49). CAD daha sonra çekirdek içerisindeki kromozomal DNA’yı parçalar ve kromatinin yoğunlaşmasına neden olur. Kaspaz-3 aynı zamanda hücre iskeletinin yeniden organizasyonunu ve apoptotik yapılar içerisinde hücrenin parçalanmasını da indükler. Protein bağımlı bir aktin olan gelsolin, aktive edilmiş kaspaz-3’ün anahtar substratlarından biri olarak tanımlanmıştır. Kaspaz-3 sırasıyla gelsolin ve gelsolin parçalarını ve kalsiyum bağımsız bir şekilde aktin filamanlarını parçalayacaktır. Bu hücre iskeletinin bozulmasına, hücre içi transporta, hücre bölünmesi ve sinyal iletimine yol açacaktır (50). Apoptotik hücrelerin fagositik alınımı apoptozisin en son komponentidir. Fosfolipit asimetrisi ve fosfatidil serinin apoptotik hücreler ve onların fragmentlerinin yüzeyine eksternalizasyonu bu fazın tanımlayıcı bir karakteristiktir (51).

#### 5. APOPTOZİSİN FARKLI FORMLARI

Apoptozis genel anlamda bir organizmanın yaşamı ve homeostazinin devamlılığını için gerekli olan “Fizyolojik Apoptozis” ve patolojik durumlarda gerçekleşen “Patolojik Apoptozis” olarak 2 gruba ayrılabilir.

#### 5.a. Fizyolojik Apoptozis

Normal fizyolojideki apoptozisin rolü, karışık olan mitozis kadar önemlidir ve çeşitli hücre popülasyonunun düzenlenmesinde mitozise zıt rol oynamaktadır. Organogenez sırasında dokuların yıkılarak yeniden yapılması sırasında fizyolojik apoptozis önemli yer tutar. Erişkin bir insan vücudunda homeostazinin devamlılığını gerektirir ve apoptozis tarafından gerçekleştirilen bu ölümleri dengelemek için her gün yaklaşık olarak 10 milyar hücre yapılıp (52,53). Bu sayı normal gelişim, yaşlanma ve hastalık süresince apoptozisin artmasına bağlı olarak önemli derecede artabilir. Apoptozis çeşitli gelişim basamakları süresince kritik öneme sahiptir. Örnek olarak sinir sistemi ve immün sistemin her ikisi hücrelerin üretimi ile açığa çıkar. Bu bağlamdaki üretimi daha sonra sırasıyla fonksiyonel sinaptik bağlantılarını kuramayan ya da antijen spesifitesini üretemeyen hücrelerin ölümü takip eder (54,55). Apoptozis aynı zamanda patojenlerin istila ettiği hücrelerden vücudu kurtarmak için gereklidir ve skar doku içerisindeki granülasyon dokusunun debridasyonu ve inflamatuvar hücrelerin uzaklaştırılmasını içeren yara iyileşmesinin hayati bir komponentidir (56). Yara iyileşme süresince apoptozisin disregülasyonu genellikle skar oluşumu ya da fibrozis gibi iyileşmenin patolojik formuna yol açabilir. Apoptozis aynı zamanda periferel dokularda ya da merkezi lenfoid organlarda (kemik iliği ya da timus)’teki olgunlaşma süresince aktive edilmiş ya da otoagresif immün hücrelerin elimine edilmesi için de gereklidir (57). İnfaz yolu olarak, apoptozis post ovulasyon folikülünün foliküler atresisi ve süttan kesme sonrası meme bezinin yeniden eski halini alması gibi erişkinlerdeki yeniden ekillenme içinde merkezi bir role sahiptir (58,59). Dahada ötesi, organizmalar yaşlandıkça, bazı hücreler hızlı bir oranda kötüleşmeye başlarlar ve apoptozis yolu ile elimine edilirler. Bir teori yaşla indüklenen apoptozis patofizyolojisinde, birikmiş serbest radikallerin mitokondrial DNA’ya hasar vermesi ile oksidatif stresin primer rol oynadığını yönündedir (60,61).

#### 5.b. Patolojik Apoptozis ve Belirli Hastalıklarda Apoptozisin İndüklenme Mekanizmaları

Apoptozisin bir diğer formu patolojik apoptozistir. Hücre ölümünün düzenlenmesindeki anormallikler; kanser, otoimmün lenfoproliferatif sendrom, AIDS, iskemi, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, Huntington hastalığı ve Amyotrofik Lateral Sklerozis gibi nörodejeneratif hastalıkların önemli bir komponenti olabilir. Kanser, hücre siklusunu düzenlemesinde rol alan normal mekanizmaların fonksiyonel olmaması, hücrelerin aşırı çoğalması ve/veya hücrelerin uzaklaştırılmasının azalmasına bir örnek olarak verilebilir (62). Gerçekte, karsinogenez süresince apoptozisin baskılanmasının gelişimde ve bazı kanserlerin ilerlemesinde merkezi bir rol oynadığını düşünülmektedir (63). Tümör hücrelerinin apoptozisi baskılamak için kullandıkları çeşitli moleküler mekanizmalar vardır. Tümör hücreleri Bcl-2 gibi anti-apoptotik proteinlerin ekspresyonu ya da Bax gibi pro-apoptotik proteinlerin mutasyonu ya da down



regülasyonu ile apoptozise karşı direnç kazanabilir (64). Kanserde apoptozisin baskılanmasının di er metodu immün gözetimden kurtulmadır (65). Çe itli sinyal iletim yollarındaki de i iklikler apoptozisin düzenlenmesinin bozulmasına ve kansere yol açar. p53 tümör süpresör geni hücre siklusunu düzenleyen transkripsiyon faktörüdür ve insan tümörögenesinde ço unlukla geni bir ekilde mutasyona u ramı tır (66). Tüm insan kanserlerinin % 50'den daha fazlasında p53'ün mutasyona u ramı olması kritik role sahip oldu una dair bir kanıttır. p53, DNA uzun süreli hasar gördü ü zaman DNA onarım proteinlerini aktive edebilir, DNA hasarını tanıdı nda hücre siklusunu G1/S düzenlenme noktasında tutabilir ve e er DNA hasarının tamir edilemeyece i kanısına varılırsa apoptozisi ba latabilir (67). E er, bu sistem yanlı i lerse tümör olu abilir. p53 geni radyasyon, çe itli kimyasallar ve Human papillomavirus (HPV) gibi virüsler tarafından hasar görürse, daha sonraki zamanlarda tümör baskılanması önemli bir ekilde dü ürülür. Bu genin yalnızca bir fonksiyonel kopyasını ta ryan bireylerde ço unlukla erken eri kinlik döneminde tümöral geli im ile karakterize edilen Li-Fraumeni sendromu geli ecektir (68,69). Çe itli ajanlar tarafından indüklenmi oksidatif hasara kar ı korunmada da apoptozisin önemli bir rol aldı ı tespit edilmi tir (70). Ataxia telangiectasia mutasyona u ramı geninin (ATM) aynı zamanda ATM/p53 sinyal yolu aracılı ı ile tümör olu umunda rol aldı ı gösterilmi tir (71). ATM geni bir tümör süpresör gen olarak aktivasyon gören bir protein kinazı kodlar. yonize edici radyasyonun DNA'ya zarar vermesi ile gerçekle en ATM aktivasyonu, DNA onarımını uyarır ve hücre siklusunun ilerlemesini bloklar (72). Kansere ilaveten, apoptozisin yeteri düzeyde olmaması da aynı zamanda otoimmün lenfoproliferatif sendrom (ALPS) gibi hastalıklara yol açabilir (73). Bu çoklu otoimmün hastalıklara yol açan, otoagresif T hücreleri yetersiz apoptozise u radı ı zaman olu ur. A ırı immüno globulin üretimine yol açan B hücrelerinin a ırı ço alması da otoimmüniteye yol açar. ALPS'nin genel rahatsızlıklarından bazıları; anemi, immün aracılı trombositopeni ve otoimmün nötropenidir. A ırı apoptoziste aynı zamanda otoimmün hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar ve yaralanmayla ili kili olan iskemi gibi bazı artlarında bir özelli i olabilir. Otoimmün bozukluk sendromu olan (AIDS), insan immüno deficiency virüsü (HIV) tarafından enfeksiyon sonucu olu an otoimmün hastalı ın bir özelli idir. Bu virüs CD4 reseptörlerine ba lanarak CD4+T hücrelerini enfekte eder. Virüs daha sonra T hücrelerinin içerisine yerle ir ve burada HIV Tat proteinlerinin T hücrelerinin geni apoptozise u rmasına yol açan Fas reseptörünün ekspresyonunu arttırdı ı dü ünülür (74). Alzheimer hastalı ı, APP (amiloid prekürsör protein) ve presenilinler gibi belirli proteinlerin mutasyona u raması ile olu tu u dü ünülen bir nörodejeneratif durumdur. Presenilinlerin APP'nin amiloid ya i lenmesi sürecinde yer aldı ı dü ünülür. Bu durum, plaklar olarak bilinen amyloid 'nin ekstrasellüler depolanması ve amyloid 'nin plak formunda bir araya geldi i zaman nörotoksik oldu u dü ününcesi ile ili kilidir. Amyloid 'nin oksidatif stres ya da nöronlar ve glial hücrelerdeki Fas ligandların

ekspresyonlarının artırılmasını tetiklemeyle apoptozisi uyardı ı dü ünülür (75). Sonuç olarak apoptozisin bir seri patolojik durumlara kar ı vermi oldu u yanıt "patolojik apoptozis" olarak adlandırılır. Bu nedenle fizyolojik olaylarda oldu u gibi patolojik olaylarda da apoptozis önemli yer tutmaktadır.

## 6. APOPTOZ S N VE NEKROZ S N FARKLARI

Hücre ölümü ile ilgili ilk bilgiler 1920 yılında ık mikroskopunun ve yeni boyama yöntemlerinin ke fiyle ba lamı ve ilk olarak nekroz tanımlanmı tır (76).

Hücre ölümü canlı sistemlerdeki dinamik dengenin kontrolü için gerekli bir stratejidir ve hücre ölümünün iki genel farklı formu olan apoptozis ve nekrozis tanımlanmı tır. Nekrozis hücre membranının daha erken bir zamanda bozulması ile sonuçlanan ve hipoksi/iskemi, a ırı sıcaklık ve mekanik travma gibi iddetli çevresel ajanlar ile ilgili durumlara cevap olarak ve kaza eseri olu an pasif bir süreçtir (1,77,78). Buna zıt olarak, apoptozis ya da programlanmı hücre ölüm mekanizması, sıkı bir ekilde düzenlenen enerji ba ımlı hücre içi mekanizmanın aktivasyonunu içerir (79). Apoptozis tipik olarak inflamatuvar de i iklikler olmadı nda tek hücre ölümüdür (77). Eri kin organların ve dokuların homeostazisine ilave olarak embriyonik dokuların morfogenezinde de rol alır. Örne in, fetal ve postnatal geli im süresince akci erin normal yapısal olgunla masına e lik eder (80). Apoptozis aynı zamanda organizmada tehlikeye maruz kalan (örn: viral enfeksiyona maruz kalmı ) hücreleride elimine etmektedir. Apoptotik hücreler tipik morfolojik de i iklikler ile tanımlanır (1). Ba langıç olarak fosfatidil serine maruz kalma gibi ufak de i iklikler olmasına ra men, hücre membran bütünlü ü devam ettirilir. Apoptotik hücrelerin di er karakteristik özellikleri hücre büzü mesi, membranda kabarcık olu ması, nükleer kromatin kondensasyonu ve fragmentasyonunu içerir. Sonuç olarak, hücre bu i için özelle mi olan fagositler (makrofajlar ve dendritik hücreler) tarafından yutulacak olan membranı çevreleyen apoptotik yapılara parçalanır. Hücre kültüründe, apoptozisin daha sonraki a amalarında apoptotik yapılar plazma membran bütünlü ünü kaybederler, bunu tüm hücre bütünlü ünün kaybı takip eder ve aynı zamanda bu ikincil "nekrozis" olarak adlandırılır (77).

Apoptotik hücre ölümünün alternatifi olan nekrozis, hücrelerin enerji ba ımsız bir pasif ölüm modudur. Fakat nekrozis, "onkozis" adı verilen, karyoliz ve hücre i mesi ile hücre ölümüne, apoptozis hücre büzülmesi ise piknoz ve karyoreksis ile hücre ölümüne yol açar. Bunun için onkotik hücre ölümü terimi ve onkotik nekroz, hücre i mesine e lik eden hücre ölümünü tanımlamak için alternatifler olarak önerilir, fakat yaygın olarak kullanılmazlar (81).

Nekrotik hücre yaralanması, hücre membranlarının direkt zarar görmesi ve hücre enerji kaynaklarının engellenmesi olarak ifade edilen iki temel mekanizma aracılı ıyla gerçekleşmektedir. Nekrozis ile olu an bazı majör morfolojik de i iklikler; hücre i mesi, sitoplazmik vakuollerin olu umu, endoplazmik retikulumun i mesi, sitoplazmik kabarcıkların olu umu, kondanse olmu , i mi

ya da rüptüre u ramı mitokondri, ribozomların ayrılması ve da ılması, bozulmuş organel membranları, i mi ve rüptüre olmuş lizozomlar ve sonuç olarak da hücre membranının parçalanmasını içerir (1,81,82). Hücre membranının bütünlü ünün kaybedilmesi sitoplazmik içeriklerin, çevre dokuya salınımına ve sonuç olarak da inflamatuvar hücrelerin oluşumu ile kemotaktik sinyallerin salınımına yol açar. Bunun aksine apoptotik hücreler, hücre içeriklerini çevre dokuya bırakmaz ve inflamatuvar reaksiyonu uyarmadan, makrofajlar ya da bitişindeki normal hücreler tarafından hızlı bir şekilde fagosit edilirler (83,84).

Geleneksel histolojinin kullanımı ile apoptozisi nekrozisten ayırmak bazen kolay değildir. Çünkü uyarıların şiddeti, süresi, ATP tüketim miktarı ve kaspazların kullanılabilirliği gibi faktörlere bağlı olarak iç içe geçmiş olabilirler (85). Bir hücrenin nekrozis ya da apoptozis tarafından ölümün olmemesi, hücre öldürücü sinyal, doku tipine, dokuların gelişim aşamasına ve fizyolojik çevreye kısmen bağlıdır (85,86).

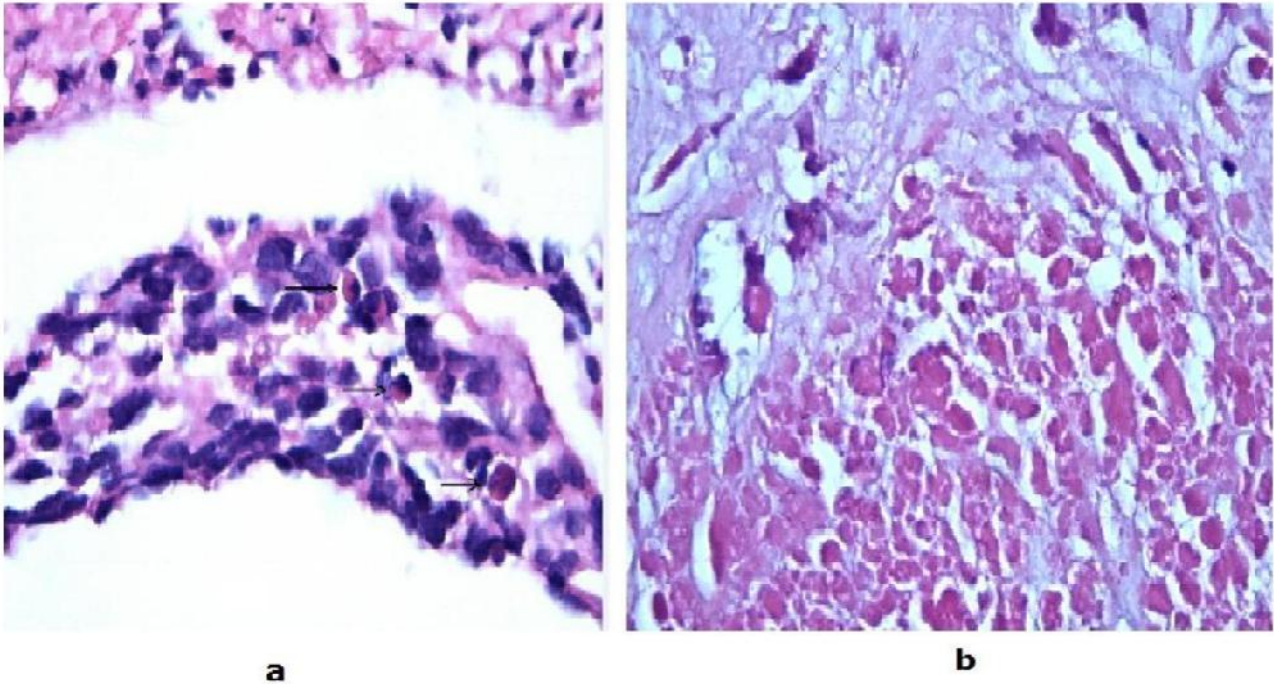
### 7. APOPTOZİS MEKANİZMASININ SINIRLARI

Normal bir hücrenin fonksiyon ve yapısı homeostatik denge içerisinde. Bazen çok aşırı bir fizyolojik stres veya bazı patolojik uyarılar nedeniyle hücreler fizyolojik ve morfolojik hücre adaptasyonlarına gereksinim duyarlar. Bu nedenle hücre fonksiyonunu ve özelliklerini düzenleyerek, değişim olan yeni duruma uyum sağlamak için çalışır. Bu mekanizmalar kabaca atrofi, hipertrofi, hiperplazi ve metaplazi olarak belirtilebilir. Eğer gelen uyarının şiddeti adaptasyon sınırlarını aşarsa veya adaptasyon olamazsa “hücre zedelenmesi” olarak adlandırılan olaylar zinciri gelişir. Hücre zedelenmesi, belli

bir noktaya kadar geri döndürülebilir fakat uyarı yeterli kadar şiddetli ise geri dönüşsüz zedelenme olur ve hücre ölür (76).

Programlanmış hücre ölümü sürecini kontrol eden birçok gen tanımlanmıştır ve bu süreçte rol alan moleküler mekanizmaların korunarak günümüze kadar geldiği bildirilmiştir (87). Belli bir süreye kadar apoptozisin geleneksel olarak kaspaz aktivasyonu ile ölümlerin uzaklaştırılması için hizmet eden genlerin oluştuğu geriye dönüşsüz bir süreç olduğu göz önünde tutulmuştur. Bununla beraber makrofajlar tarafından apoptotik hücrelerin alınımı, sadece hücre yıkıntılarının uzaklaştırılmasından daha fazlasını içerir (3).

Hoepfner ve arkadaşları *C. Elegans* embriyolarındaki yok edici genlerin bloklanmasıyla hücrelerin zayıf pro-apoptotik sinyaller ile uyarılmasıyla hücrenin hayatta kalmasını güçlendirdiğini göstermişlerdir (88). Omurgalılarda bazı dokulardaki hücre ölümlerinin devamında makrofajların potansiyel bir rolünün olduğu bazı deliller vardır. Rat gözünün ön kamerasında makrofajların eliminasyonunun normal olarak apoptozisi üstlenen vasküler endotel hücrelerin hayatta kalmasına neden olduğu gösterilirken (89), diğer bazı çalışmalar ise makrofajların inhibisyonunun fare gözünde ya da kurbağın kuyruğunun regresyon süresince dokuların yeniden düzenlenmesini bozabileceğini göstermiştir (90,91). Geske ve arkadaşları başlangıçta p53'ün indüklediği apoptotik hücrelerin apoptotik uyarılarla uzaklaştırılmasında apoptotik programdan kurtarılabilir olduğunu göstermişlerdir. Onların araştırmaları DNA onarımının başlangıçta p53'ün indüklediği apoptotik süreçte aktive edilebileceğini ve bu DNA onarımının bazı durumlarda hücre ölüm yolunu geri döndürebileceğini öne sürmektedir (92). Sonuç olarak,



**Resim 1. a:** piknotik nükleuslu, eozinofilik sitoplazmalı apoptotik hücreler ok ile gösterilmiştir. (HEx100); **b:** silüet halinde sınırları görülebilen, nükleusu ve hücresel elemanları seçilemeyen nekrotik hücrelerin görünümü. (HE x 100)

zarar gören hücreler zararın iddetine ve hücrenin bunu tolere edebilme düzeyine ba lı olarak belirli bir noktaya kadar geri döndürülebilirken, bu noktadan sonra zarar geri döndürülemez.

### 8. APOPTOZ S N B YOK MYASAL ÖZELL KLER

Apoptotik hücreler; protein parçalanması, protein çapraz ba lanması, DNA kırılması ve fagositik tanıma gibi çe itli biyokimyasal modifikasyonları üstlenirler ve bunlar belirli yapısal patolojilere yol açabilir (93). Apoptozis süresince kaspazlar önemli yer tutmaktadır. Kaspazlar, birçok hücrede inaktif proenzim formunda yaygın bir ekilde bulunur ve bir kez aktive olduklarında bir proteaz kaskadının ba lamasına izin veren di er prokaspazları aktive edebilirler. Bir kaspazın di er kaspazı aktive edebildi i bu proteolitik kaskat, apoptotik sinyal yolunu artırır ve böylece hızlı hücre ölümüne neden olur. Farklı kaspazlar kom u aminoasitin tanınmasında farklı spesifiteye sahip olmasına ra men, bunlar proteolitik aktiviteye sahiptirler ve proteinleri aspartik asit birimlerine parçalayabilirler. Kaspazlar aktive olduklarında hücre ölümüne kar ı geri dönü ümsüz bir zorunluluk ortaya çıkar. Tanımlanmış olan 10 büyük kaspaz; ba laticılar (kaspaz-2,-8,-9,-10), efektörler ya da karar vericiler (kaspaz-3,-6,-7) ve inflamatuvar kaspazlar (kaspaz-1,-4,-5) olarak kategorize edilmiştir (94,95). Kaspaz 11’ide içeren di er tanımlanmış kaspazların apoptozis düzenleyicisi ve septik ok süresince sitokin olgunla tırıcı olarak, kaspaz-12’nin endoplazmik spesifik apoptozis ve amyloid-tarafından sitotoksiste aracı, kaspaz-13’ün bir bovin gen oldu u ve kaspaz-14’ün embriyonik dokularda oldukça yüksek düzeyde ekspresyonu fakat eri kin dokularda ifade edilmedi i belirtilmiştir (96-98).

Ca<sup>2+</sup> ve Mg<sup>2+</sup> ba ımlı endonükleazlar DNA’yı 180-200 baz çiftlik DNA fragmanlarına parçalar, bu parçalar ultraviyole ışık altında agaroz jel elektroforezi ile görüntülenebilir (99). Ba ka bir biyokimyasal özellik ise kom u dokuları minimal tehlikeye atan, hızlı fagositoze izin veren, kom u hücreler tarafından apoptotik hücrelerin fagositik olarak tanınmasına yol açan ve hücre lipid tabakasının fosfatidil serin ile normal olarak kar ı kar ıya gelme hareketi ile ba arılan hücre yüzey markırlarının ekspresyonudur (100).

### 9. KASPAZLARIN AKT VASYONUNUN GENEL ÖZELL KLER

Apoptozis süresince kaspaz aktivasyonunda; eksternal (ekstrasellüler) tetikleyiciyi takip eden ölüm reseptörünün çapraz ba lanması ve internal (intraseellüler) sinyalleri takip eden mitokondriden apoptojenik faktörlerin serbest bırakılması ile endoplazmik retikulum stres-indüklenmiş apoptozis ve kaspaz-ba ımsız apoptozis önemli yollarıdır (101).

Apoptozis kompleks biyokimyasal kaskat olaylarının bir sonucudur. Apoptozis sinyalleri esas olarak hücre içi kaspazların aktivasyonunda fonksiyon görür. Kaspazlar normal hücrelerde inaktif proenzimler olarak sentez edilirler; bunlar otoproteolitik parçalanma ya da spesifik aspartik asit rezidülerinde di er kaspazlar tarafından hızlı

bir ekilde aktive edilebilir. Kaspaz ailesinin 14 üyesi tanımlanmıştır ve bunların yedisi apoptozise aracılık eder. Apoptozis süresince, upstream sinyal ileticisi (ba laticı kaspaz) olarak bir uzun pro-domainli kaspazlar ve kısa bir prodomain içeren downstream kaspazları (effektör kaspazları) proteolitik olarak aktive eden kaspazlar fonksiyon görür (102). Ba laticı kaspaz-8 ve 10, prodomainlerinde adaptör proteinler ile etkile imi içeren bir öldürücü efektör domaini (DED) içerir. Bir kaspaz toplayıcı domain (CARD) kaspaz-2 ve kaspaz-9 da bulunur ve aynı zamanda bir adaptör molekülün ba lanmasında ve efektör kaspazların aktivasyonunda önemlidir (103). Kaspazlar spesifik olarak bir Asparajin (Asp) rezidüsü için mutlak gerekli substratlarında bir tetrapeptid sekansını tanıır ve parçalar. Efektör kaspazların substratların bir çe idi üzerindeki etkisi, hücre proteinlerin proteolizisine ve apoptozis aracılı ı ile ölümüne neden olur. En iyi karakterize edilmiş olan kaspaz substratı, DNA onarımında rol alan bir çekirdek proteini poly-(ADP-riboz) polimeraz (PARP)’dır. PARP spesifik kaspaz parçalanması için hedeflenmiş ba langıç proteinlerinden biridir (104). Laminlerin kaspaz parçalanması, çekirdek büzü mesi, sitozolik yeniden düzenlenmeye yol açan fodrin ve aktin benzeri hücre iskeleti proteinlerinin parçalanmasına neden olur (105,106). Dahada ötesi, DNA-protein kinaz (DNA-PK), hücre siklusu düzenleyicileri [retinoblastoma protein (pRb)], transkripsiyon faktörleri (NF- B) ve hücre sinyal proteinleri [Raf, protein kinase B (PKB)] açıklanmıştır (107-110). Proteinlerin kaspaz parçalanması apoptotik infaz için kritik bir olay olmasına ra men, muhtemelen anahtar substratların tamamı henüz bilinmiyordu. Kaspazların tamamı direkt olarak hücre ölümünde yer almaz; bazıları di er fizyolojik fonksiyonları yerine getirir. Bu kaspazlar pro-inflamatuvar sitokinler ve inflamatuvar cevaplara aracılık etmede rol alırlar (111). Bunlara ilaveten kaspaz genlerindeki polimorfizm ile kanser arasında bir ili kinin bulunup bulunmayacağına dair çalı malar yapılmış ve meme kanserli hastaların, kaspaz genlerindeki (kaspaz 8 ve kaspaz 9) polimorfizm ile kanser arasında bir ili kinin olabilece i bildirilmiştir (112).

### 10. KASPAZ-BA İMSİZ APOPTOZ S

Hücre ölümünün bazı formları DNA fragmentasyonu, DNA kondenzasyonu ya da kaspaz aktivasyonu olmadığında, kaspaz inhibitörü Z-VAD.fmk’nın varlığında olu tu unda kolaylıkla apoptozis ya da nekrozis olarak sınıflandırılmaz (113). Z-VAD.fmk, bir kovalent inhibitör-enzim kompleksi olu turan bir fluoromethyl keton (fmk) gurubudur ve aspartik asit rezidüsü boyunca tüm kaspazların katalitik bölgesine dönü ümsüz olarak ba lanır (114). Kaspaz ba ımsız apoptozis fikri ile ilgili farklı görü ler vardır. Yapılan çalı malarda orjinal olarak nekrotik ya da apoptotik olmayan morfoloji ile ilgili programlanmış hücre ölümü açıklanmıştır. Örne in, TNF; kaspaz aktivasyonuna ba lı olarak apoptotik hücre ölümünü ya da kaspaz aktivasyonu olmaksızın nekrotik morfolojili hücre ölümünü indükler (115). Hücrelerin kaspaz aktivasyonundan kaçmasının, istenmeyen hücrelerin uzakla tılmasında proteazların tek bir ailesine ba ımlı olan organizmalar için tehlikeli



oldu u da göz önünde bulundurulmalıdır (116). Kathepsinler, kalpainler ve serin proteazlar benzeri granzim A/B ve Omi/HtrA2 içeren kaspaz olmayan proteazların incelenmesi, kaspaz ba ımsız apoptozisin anlaşılmasında önem arz etmektedir(117). Bu proteazlar kaspazlarla birlikte çalışabilir ve aynı zamanda kaspaz ba ımsız apoptozisi indükleyebilirler (118).

### 11. APOPTOZ S N ENGELLENMES

Birçok hücre apoptozis geçirebilmesine rağmen, apoptozis inhibitör mekanizmalarının olması bir gereksinim olarak durmaktadır. Ölüm reseptörüyle uyarılan apoptozisin endojen inhibitörlerinin bir grubu ICE inhibitör proteinleri (FLIP) ailesi benzeri FADD'a aittir ve bu moleküller ba laticı kaspaz-8 ve 10 ya da adaptör proteinleri içeren ölüm efektör domainine ba lanmak için yararlıdır, böylece ölüm reseptörü tarafından indüklenen sinyal kompleksini ve apoptozisi inhibe ederler. (119-121).

Ayrıca apoptozisin özelli i olan birçok patolojik artlar (nörodejeneratif rahatsızlıklar, AIDS, iske mi vb.) vardır, bu nedenle apoptozisin yapay inhibisyonundan faydalanılabilir (122). Antiapoptotik tedavi ile ilgili metodların kısa bir listesi; proteinlerin IAP ailesinin uyarılması (apoptozis proteinlerin inhibitörü), kaspazın inhibisyonu, PARP (poli (ADP-riboz) polimeraz inhibisyonu, PKB/Akt (protein kinaz B)'nin yolunun uyarılması ve Bcl-2 proteinlerinin inhibisyonu olarak verilebilir. Proteinlerden IAP ailesi hem intrinsik hem de ekstrinsik yolu kontrol eden apoptozisin en önemli düzenleyicileri oldu u dü ünülmektedir (123). Mitokondrial ve ölüm reseptör yolunun her ikisi apoptozis inhibitör (IAP) ailesinin baskısı altındadır (124). IAPs direkt ya da indirekt olarak kaspaz ailesinin üyelerini inhibe eder. XIAP, c-IAP-1 ve c-IAP-2 ye direkt ba lanarak kaspaz-3, kaspaz-7 ve kaspaz-9'u inhibe eder (125). Bir IAP aile üyesi olan survivin'de aynı zamanda direkt olarak kaspazları inhibe eder (126). IAP'ın bir antagonisti olarak Omi/HtrA2 tanımlanmıştır (127).

Kaspaz aktivitesinin spesifik inhibitörleri fayda da sağlayabilir. ICE (interlökin-1 beta-dönü türücü enzim) aynı zamanda kaspaz I olarak adlandırılır, ve apoptozis süresince hücre içi protein parçalanmasına aracılık eden bir sistein proteazdır (128). ICE inhibitörleri Romatoid artrit ve interlökin 1 nin azalması ile di er inflamatuvar artların tedavisini geli tirmektedir (129).

Apaf-1 aktivatörü sitokrom c tarafından indüklenen kaspaz aktivasyonunu baskılayan kaspaz-9 antagonisti (TUCAN) içeren tumor-up-regulated CARD tanımlanmıştır (130). Oldukça sıkı korunmuş olan strese cevap olarak sentezlenen, heat shock proteinleri (Hsp), apoptozisin inhibisyonu ile hücrenin hayatta kalmasını kolaylaştırır. Hsp27 pro-apoptotik Bcl-2 ailesi proteinlerinin aktivitesini baskılayarak apoptozis süresince mitokondriyi koruyabilir ya da daha fazla apoptozom fonksiyonunun bozulmasına yol açabilir (131).

Kardiak iske mi ve global beyin iskemisinin transgenik modelleri ile yapılan çalış malar; Bax ekspresyonu veya fonksiyonunun inhibisyonunun mitokondriden sitokrom salınımını önleyebilece ini, mitokondrial membran potansiyelinde azalmayı ve apoptozise karşı hücreleri korumayı inhibe edeceğini göstermiştir (132,133).

### 12. APOPTOZ S ANORMAL TELER ve HASTALIKLAR

Apoptozisin hayatın ayrılmaz bir parçası oldu u ve birçok hastalığın patogeneziinde rol alabilece i göz önünde bulundurulmalıdır. Normal olarak apoptozis, istenmeyen, yaralanmış ve virüs tarafından enfekte edilmiş hücreleri uzakla tırmayı sağlar, fakat bu süreç bozulduğ unda hastalık oluşur. Kanser, aterosklerozis ve otoimmün hastalıklar gibi apoptozisin baskılanması ile ilgili hastalıklar vardır. Artmış apoptozis ile ba lantılı olan di er hastalıklar, viral infeksiyonlar (AIDS), bakteriyel infeksiyonlar (Neisseria meningitidis), nörodejeneratif rahatsızlıklar (Alzheimer's hastalığı), otoimmün rahatsızlıklar (multiple sclerosis), hematolojik rahatsızlıklar (myelodysplastic syndromes), iskemik yaralanmalar (myocardial infarction) ve toksin-indüklemli hastalıklardır (alkol-indüklemli hepatitler) (134). Ya lanma sürecinin apoptozisin düzeninin bozulması ile ilişkili oldu u görülür. Farklı çalış malar apoptozis düzenleyici proteinlerdeki ya bantımlı de i iklikleri göstermiştir ve bu malignitenin yüksek prevalansı, otoimmün rahatsızlıklar ve ya lı insanlardaki nörodejeneratif rahatsızlıklarla uyumludur (135).

#### 12.a. Apoptozis ve Kanser

Apoptozis özellikle kanser ile ba lantılıdır. Normal hücrelere er antikanser ilaçlar ve radyasyon gibi fizyolojik olmayan stress tipleri ile karşılaşırsa ölüm için programlanır (136, 137). Kanserdeki birçok hücrenin birikimi yaygın hücre proliferasyonu ve/veya yetersiz apoptoza neden olur. Antiapoptotik proteinlerin aktivitesi ya da artmış ekspresyonu ve pro-apoptotik genlerdeki her iki inaktive edici mutasyon yetersiz apoptozis ve malign hücrelerin büyümesine neden olur (138). Bu nedenle proapoptotik p53 tümör süpresör genindeki mutasyonlar ve Bcl-2 ailesi proteinlerinin ekspresyonundaki de i iklikler oldukça dikkate alınmalıdır. Folikül merkezli hücrede, kromozomal t(14;18) translokasyonunda anti-apoptotik Bcl-2 geni tanımlanmıştır. Bu gen; B-hücreli lenfomalarda, akut lösemilerde ve birçok solid tümörde a ırı bir şekilde ekspresyon edilir ve kötü prognoz ile uyumluluk göstermektedir (139,140). Di er Bcl-2 ailesine ait proteinlerin a ırı ekspresyonu da tanımlanmıştır; akut lösemilerde artmış Mcl-1 ekspresyonu kemoterapiden sonra nüks ile açıklanmıştır ve Bcl-XI düzeyindeki yükselme kronik myeloid lösemilerde (KML) ve multipl myelomlarda bulunmuştur (141,142).

Proapoptotik üyeler olan Bax ve Bak'ın ekspresyonundaki yetersizlikler kolon kanseri ve hematolojik maligniteler gibi çe itli kanserlerde tanımlanmıştır (143,144). Buna ilaveten, Epstein-Barr virus (EBV) gibi çe itli patojenik virüslerin genomu Bcl-2 homologlarını kodlar (145). Tümör süpresör gen p53; DNA hasarı, hipoksi ve sıcaklık şoku gibi çe itli koşullar tarafından aktive edilebilir. p53, hücre siklusunun durmasında (p21, Gadd45) ya da apoptozisin indüksiyonunda rol alan çe itli genlerin (Bax, Apaf-1, caspase-9, Fas, DR5, p53-inducible gen (PIG) ve Noxa gibi) transkripsiyonunu düzenler (146-149). p53'ün mutasyona uğ raması ya da delesyonu kanserde en sık görülen genetik anomalidir; p53 fonksiyonunu inaktive eden ve p53'deki mutasyonlar sonucu oluşan insan tümörlerinin %50'sinden daha fazlası bu nedenle oluşur



(150,151). p53'teki de iklikler tümör supressör aktivitesini kaldırır ve tümör olumuna elik eder. Mutant p53'leri ekspre eden hücreler de ilaç ba ımlı apoptozise duyarlıdır (152,153). Li-Fraumeni sendromlu bireyler p53'de germline mutasyonlarına sahiptir ve artmı malignite riskine, özellikle meme kanseri ve sarkomaya meyillidir (154). Mutasyonlar ya da upstream p53 düzenleyicilerinin (ATM, Chk2, Mdm2 ve p19(ARF)) de i mi ekspresyonu ve p53 proteolizisini tetikleyen human papillomavirus (HPV)-E6 onkoproteini, insan tümörlerinde tanımlanmı tır (153,155,156). Di er apoptotik düzenleyicilerindeki de i iklikler de aynı zamanda çe itli malignitelerin patogenezisinde de yer almaktadır. nsan Fas genindeki germline mutasyonları otoimmün lenfoproliferatif sendromlar (ALAPS) ile ili kilidir (157). Pro-kaspaz-8 ya da kaspaz-9 kodlayan genlerdeki mutasyonlar nöroblastoma ve gastrik karsinomalarda kaspaz-8 mutantlarını inaktive eden hücre ölümünde tanımlanmı tır (158,159). Apoptozis inhibitörleri ailesi (IAPs) normal olarak hücreleri apoptozise kar ı korur, fakat aynı zamanda malignite ile de uyumluluk gösterir. IAP survivin genel olarak kanserlerde a ırı ekspre edilir ve G2/M kontrol noktasında apoptozisi önleyerek birçok kanserde anormal mitozaya elik eder (160,161). Tümör olumuna ilaveten, apoptozisteki defektler ilaca kar ı bozuklukların da temelini te kil etmektedir (162). Bcl-2 ve Bcl-XI'ın a ırı ekspresyonu kemoterapiye kar ı hücrelerin dirençli olmasını sa lar; artmı Bcl-2 düzeylerinin; etoposid, kamptotesin, doxorubisin, vinkristin ve aktinomisin D gibi kemoterapotik ajanlara ve dexamethasone'a kar ı cevapta apoptozisi inhibe etti i gösterilmi tir (163-165).

### 12.b. Apoptozis ve Kanser Terapisi

Reseptör aracılı ve mitokondrial aracılı yolların aracılı ıyla apoptozisin indüksiyonu hedef hücreleri öldürmek için günümüzde birçok ilaç kanser tedavisinde kullanılmaktadır. Mitokondrial membran potansiyelinin bozulması, sitokrom c salınımı ve farklı kaspazların aktivasyonu farklı kemoterapötik ajanlar ile hücrelerin muamelesini takiben tanımlanmı tır (166). Örne in, kemoterapi ile indüklenmi p53 cevabı, Bax'ın transkripsiyonundaki artı a, sitokrom c salınımına ve kaspaz aktivitesine yol açar. Doxorubisin, sisplatin, methotrexate, sitarabin ve etoposid tedavisini takiben Fas sisteminin aktivasyonu ve FasL'nin indüksiyonu farklı sistemlerde incelenmi tir (167,168). Buna ilaveten, ölüm reseptör ligantı interferon ile KML'nin tedavisi KML projenitorlerinde Fas'ın upregülasyonuna yol açar (169). Fas-pozitif AML'li hastaların Fas-negatif AML'li hastalara nazaran daha iyi terapötik cevaba sahip oldu u gösterilmi tir (170).

Apoptozise direnç ve apoptozis mekanizmasının anlaşılmasındaki geli meler yeni antikanser ajanların geli tirilmesi için yeni anlayı lar sa lamaktadır. TNF ailesinin bir üyesi olan TRAIL, hücre yüzeyi ölüm reseptörü DR4 ve DR5'e ba lanır, Transformasyona u ramı hücreler duyarlı olmasına ra men, normal hücreler bu mekanizmadan kaçır (171). Gerçekte, normal prostat hücreleri, fibroblastlar ve düz kas hücreleri etkilenmemesine ra men, TRAIL lösemik ve solid tümör hücre hatlarında apoptozisi indükler (26).

Buna ilaveten, peptid benzeri BH3 ve Bcl-2 hedefleyen antisens oligonükleotidler tümör hücrelerinde apoptozisi güçlendirebilir. Bcl-2 antisens ilacı olan Genasense (Genta, Inc., Berkeley Heights, NJ, USA) malign melanoma, multipl myeloma, kronik lenfositik lösemi ve küçük hücreli akci er karsinomu için faz III klinik tedavidir (172-174). Bcl-2 antisens oligonükleotid tedavi testleri non-Hodgkin's lenfoma, akut lösemi ve küçük hücreli akci er kanserlerinde kullanılmaktadır (175,176).

Bir siklin ba ımlı kinaz inhibitörü olan seliciclib (CYC202 ya da R-roscovitine) Mcl-1'in downregülasyonu aracılı ıyla multipl myelomada aktivite göstermektedir (177). Adenoviral gen transferi ile pro-apoptotic Bax'ın tümör seçici ekspresyonu tümör hücrelerinde seçici toksisiteye yol açmaktadır (178). Bazı komponentler periferik benzodiazepine reseptör ligandı (PK11195), bir östrojen türevi methoxyoestradiol, indazole-3-carboxylic asit ve arsenitden türetilmi lonidamine'in mitokondrial fonksiyon üzerinde direkt etkiye sahip oldu u gösterilmi tir (179,180). p53 mutasyonu ya da disregülasyonlu hedef tümörler için küçük molekül inhibitörlerinin geli imi ve p53 düzenleyici Mdm-2, onun ekspresyon veya fonksiyonunun inhibisyonunda da kullanılmaktadır (181). NF- B'nin baskılanması kanser tedavisinin geli tirilmesi için di er bir stratejidir. Çe itli anti-apoptotik genlerin (Bcl-2, Bcl-XI, c-IAP-2) ekspresyonunu ve NF- B a ırı ekspresyonunu indükleyen transkripsiyon faktörleri farklı kanserlerde bulunmu tur (182,183). Bortezomib, downregule edilmi Bcl-2 tarafından NF- B süpresyonunun indükledi i apoptozis üzerinde duyarlı etkiye sahiptir (184). Di er taraftan, antitümör aktivitesinin önemli bir aracısı olan BH3 proteinleri Bik ve Bim düzeylerinin, bortezomib aracılı ıyla çe itli hücre hatlarında arttı ı bildirilmi tir (185). Heat ok proteinleri de aynı zamanda farmakolojik hedeflerdir. Bir Hsp 90 inhibitörü olan Geldanamycin açık anti tümör etki gösterir (186). Tüm bu terapötik seçenekler için, transforme edilmi hücrelerde yapılacak olan çalı malar günümüzde kullanılmakta olanlardan daha aktif ve daha az toksik yeni terapötik ajanların geli tirilmesine yol açabilir. Gelecekte, kemoterapiye duyarlı ve kemoterapiye dirençli hücreler arasında apoptozis ile ili kili genetik de i iklikler ve kar ıla tırmaların hasta spesifik profilleri, daha az ters etkiye sahip olan hasta spesifik apoptozis temelli yolları açacaktır (187).

### SONUÇ

Apoptozis, spesifik morfolojik ve biyokimyasal özellikler ile karakterize edilen, birçok moleküllerin rol aldı ı enerji ba ımlı bir süreçtir. Apoptozis mekanizmasında rol alan birçok biyomolekül tanımlanmasına ra men, bu konu ile ilgili yapılacak olan çalı maların, henüz tanımlanmamı olan ve bu süreçte önemli fonksiyonları olabilecek ilave molekülleride ortaya koyaca ı bir gerçektir. Buna ilaveten u ana kadar apoptozis sürecindeki bir çok anahtar apoptotik proteinlerin aktive veya inaktive edilmeleri ya da i levlerinin moleküler mekanizması tamamiyle anlaşılammı tır ve yapılacak olan ara tırmalar ile bu mekanizmalar daha iyi anlaşılacaktır. Bu ke ifler ile hem organizmaların vücut yapılarının ekillenmesi ve

homeostazisinin sağlanmasında hem de hastalıkların patofizyolojisinde önemli yer tutan apoptozis mekanizması daha iyi anlaşılacaktır. Böylece bazı tümörler olmak üzere çeşitli hastalıklarda bu bilgilerden faydalanılarak hücre siklusunun farklı noktaları için yeni hedefler ve bu hedeflere özgü terapötikleri içeren yeni tedavi stratejileri geliştirilerek organizmaların yaşam konforu daha iyi bir hale getirilebilecektir. Böylece tüm organizmalarda sıkı bir şekilde korunmuş olduğu kabul edilen embriyogenezis, doku homeostazisi ve organizmaların yenilenmesinden çeşitli hastalıklar (özellikle insanlığın müzdarip olduğu kanser) da rol alan apoptozis daha iyi anlaşılabilir ve böylece yetersiz ya da aşırı apoptozisten kaynaklanan olumsuz durumlar ortadan kaldırılabilir.

## KAYNAKLAR

1. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26:239-57, 1972.
2. Paweletz N, Walther Flemming: pioneer of mitosis research. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2:72-5, 2001.
3. Susan Elmore. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol.* 35(4):495-516, 2007.
4. Horvitz HR. Genetic control of programmed cell death in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Cancer Res* 59:1701-1706, 1999.
5. Formigli L, Papucci L, Tani A, Schiavone N, Tempestini A, Orlandini GE, Capaccioli S, Orlandini SZ. Aponecrosis: morphological and biochemical exploration of a synthetic process of cell death sharing apoptosis and necrosis. *J Cell Physiol* 182:41-9, 2000.
6. Sperandio S, de Belle I, Bredesen DE. An alternative, non-apoptotic form of programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:14376-81, 2000.
7. Debnath J, Baehrecke EH, Kroemer G. Does autophagy contribute to cell death? *Autophagy* 1:66-74, 2005.
8. Norbury CJ, Hickson ID. Cellular responses to DNA damage. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 41:367-401, 2001.
9. Kerr JFR, Harmon BV. Definition and incidence of apoptosis: an historical perspective. In: Tomei LD, Cope FO, eds. *Apoptosis: the molecular basis of cell death*, Vol. 3. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 5-29, 1991.
10. Utz PJ, Anderson P. Posttranslational protein modifications, apoptosis and the bypass of tolerance to autoantigens. *Arthritis Rheum* 41:1152-1160, 1998.
11. Itoh N, Nagata S. A novel protein domain required for apoptosis: mutational analysis of human Fas antigen. *J Biol Chem* 268:10932-10937, 1993.
12. Me Cubrey JA, May WS, Duronio V, Mufson A. Serine/threonine phosphorylation in cytokine signal transduction. *Leukemia* 14:9-21, 2000.
13. Cross TG, Scheel-Toellner D, Heriquez NV, Deacon E, Salmon M, Lord JM. Serine/Threonine protein kinases and apoptosis. *Exp Cell Res* 256:34-41, 2000.
14. Kumar S. ICE-like proteases in apoptosis. *Trend Biochem Sci* 20:198-202, 1995.
15. Salveson GS, Dixit VM. Caspases: intracellular signaling by proteolysis. *Cell* 91:443-446, 1997.
16. Wallach D, Boldin M, Varfolomeev E, Beyaert R, Vandenabeele P, Fiers W. Cell death induction by receptors of the TNF family: towards a molecular understanding. *FEBS Lett* 410:96-106, 1997.
17. Muzio M, Salveson GS, Dixit VM. FLICE induced apoptosis in a cell free system. *J Biol Chem* 272:2952-2956, 1997.
18. Scaffidi C, Schmitz I, Zha J, Korsmeyer SJ, Krammer PH, Peter ME. Differential modulation of apoptosis sensitivity in CD95 type I and type II cells. *J Biol Chem* 274:22532-22538, 1999.
19. Cain K, Bratton SB, Langlais C, Walker G, Brown DG, Sun XM, and Cohen G. MAPaf-1 oligomerizes into biologically active approximately 700-kDa and inactive approximately 1.4-Mda apoptosome complexes. *J Biol Chem* 275:6067-6070, 2000.

20. Mountz JD, Zhou T. Apoptosis and Autoimmunity. In: Koopman WJ ed. *A Textbook of Rheumatology: Arthritis and Allied Conditions*. Lippincott Williams&Wilkins, 2001.
21. Igney FH, Krammer PH. Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nat Rev Cancer* 2:277–88, 2002.
22. Martinvalet D, Zhu P, Lieberman J. Granzim A induces caspase- independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis. *Immunity* 22:355–70, 2005.
23. Lowe SW, Schmitt EM, Smith SW, Osborne BA, and Jacks T. p53 is required for radiation-induced apoptosis in mouse thymocytes. *Nature* 362:847-849, 1993.
24. Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science* 281:1305-8, 1998.
25. Chicheportiche Y, Bourdon PR, Xu H, Hsu YM, Scott H, Hession C, Garcia I, Browning JL. TWEAK, a new secreted ligand in the tumor necrosis factor family that weakly induces apoptosis. *J Biol Chem* 272:32401–10, 1997.
26. Ashkenazi A, Pai RC, Fong S, Leung S, Lawrence DA, Marsters SA, Blackie C, Chang L, McMurtrey AE, Hebert A, DeForge L, Koumenis IL, Lewis D, Harris L, Bussiere J, Koepfen H, Shahrokh Z, Schwall RH. Safety and antitumor activity of recombinant soluble Apo2 ligand. *J Clin Invest* 104:155–162, 1999.
27. Peter ME, Krammer PH. Mechanisms of CD95 (APO-1/Fas)-mediated apoptosis. *Curr Opin Immunol* 10:545–51, 1998.
28. Suliman A, Lam A, Datta R, Srivastava RK. Intracellular mechanisms of TRAIL: apoptosis through mitochondrial-dependent and -independent pathways. *Oncogene* 20:2122–33, 2001.
29. Hsu H, Xiong J, Goeddel DV. The TNF receptor 1-associated protein TRADD signals cell death and NfκB activation. *Cell* 81:495–504, 1995.
30. Wajant H. The Fas signaling pathway: more than a paradigm. *Science* 296:1635–6, 2002.
31. Kischkel FC, Hellbardt S, Behrmann I, Germer M, Pawlita M, Krammer PH, Peter ME. Cytotoxicitydependent APO-1 (Fas/CD95)- associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *Embo J* 14:5579–88, 1995.
32. Kataoka T, Schroter M, Hahne M, Schneider P, Irmiler M, Thome M, Froelich CJ, Tschopp J. FLIP prevents apoptosis induced by death receptors but not by perforin/granzim B, chemotherapeutic drugs, and gamma irradiation. *J Immunol* 161:3936–42, 1998.
33. Budd RC. Death receptors couple to both cell proliferation and apoptosis. *J Clin Invest* 109:437-42, 2002.
34. Trapani JA, Smyth MJ. Functional significance of the perforin/granzim cell death pathway. *Nat Rev Immunol* 2:735–47, 2002.
35. Fan Z, Beresford PJ, Oh DY, Zhang D, Lieberman J. Tumor suppressor NM23-H1 is a granzim A-activated DNase during CTL-mediated apoptosis, and the nucleosome assembly protein SET is its inhibitor. *Cell* 112:659–72, 2003.
36. Lieberman J, Fan Z. Nuclear war: the granzim A-bomb. *Curr Opin Immunol* 15:553–9, 2003.
37. Saelens X, Festjens N, Vande Walle L, van Gurp M, van Loo G, Vandenabeele P. Toxic proteins released from mitochondria in cell death. *Oncogene* 23:2861–74, 2004.
38. Du C, Fang M, Li Y, Li L, Wang X. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell* 102:33–42, 2000.
39. Hill MM, Adrain C, Duriez PJ, Creagh EM, Martin SJ. Analysis of the composition, assembly kinetics and activity of native Apaf-1 apoptosomes. *Embo J* 23:2134–45, 2004.
40. Schimmer AD. Inhibitor of apoptosis proteins: translating basic knowledge into clinical practice. *Cancer Res* 64:7183–90, 2004.
41. Joza N, Susin SA, Daugas E, Stanford WL, Cho SK, Li CY, Sasaki T, Elia AJ, Cheng HY, Ravagnan L, Ferri KF, Zamzami N, Wakeham A, Hakem R, Yoshida H, Kong YY, Mak TW, Zuniga-Pflucker JC, Kroemer G, Penninger JM. Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature* 410:549–54, 2001.
42. Li H, Zhu H, Xu CJ, Yuan J. Cleavage of BID by caspase-8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis. *Cell* 94:491–501, 1998.
43. Esposti MD. The roles of Bid. *Apoptosis* 7:433–40, 2002.
44. Chau BN, Cheng EH, Kerr DA, Hardwick JM. Aven, a novel inhibitor of caspase activation, binds BclxL and Apaf-1. *Mol Cell* 6:31–40, 2000.
45. Liu FT, Newland AC, Jia L. Bax conformational change is a crucial step for PUMA-mediated apoptosis in human leukemia. *Biochem Biophys Res Commun* 310:956–62, 2003.
46. Oda E, Ohki R, Murasawa H, Nemoto J, Shibue T, Yamashita T, Tokino T, Taniguchi T, Tanaka N. Noxa, a BH3-only member of the Bcl-2 family and candidate mediator of p53-induced apoptosis. *Science* 288:1053–8, 2000.
47. Meyer N, Kim SS, Penn LZ. The Oscar-worthy role of Myc in apoptosis. *Semin Cancer Biol* 16:275–87, 2006.
48. Slee EA, Adrain C, Martin SJ. Executioner caspase-3, -6, and -7 perform distinct, non-redundant roles during the demolition phase of apoptosis. *J Biol Chem* 276:7320–6, 2001.
49. Sakahira H, Enari M, Nagata S. Cleavage of CAD inhibitor in CAD activation and DNA degradation during apoptosis. *Nature* 391:96–9, 1998.
50. Kothakota S, Azuma T, Reinhard C, Klippel A, Tang J, Chu K, McGarry TJ, Kirschner MW, Kohts K, Kwiatkowski DJ, Williams LT. Caspase-3-generated fragment of gelsolin: effector of morphological change in apoptosis. *Science* 278:294–8, 1997.
51. Bratton DL, Fadok VA, Richter DA, Kailey JM, Guthrie LA, Henson PM. Appearance of phosphatidylserine on apoptotic cells requires calcium-mediated nonspecific flip-flop and is enhanced by loss of the aminophospholipid translocase. *J Biol Chem* 272:26159–65, 1997.
52. Eröz R, Akbulut M, Yılmaz S, Ayvaz A, Sadykhov S. Age dependent DNase activity in larvae, pupae and adult stages of Mediterranean Flour Moth *Ephesia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) *Türk. entomol. derg./ Turkish Journal of Entomology*, 34 (1), 3-12, 2010.
53. Renahan AG, Booth C, Potten CS. What is apoptosis, and why is it important? *Bmj* 322:1536–8, 2001.
54. Nijhawan D, Honarpour N, Wang X. Apoptosis in neural development and disease. *Annu Rev Neurosci* 23:73–87, 2000.



55. Opferman JT, Korsmeyer SJ. Apoptosis in the development and maintenance of the immune system. *Nat Immunol* 4:410–5, 2003.
56. Greenhalgh DG. The role of apoptosis in wound healing. *Int J Biochem Cell Biol* 30:1019–30, 1998.
57. Osborne BA. Apoptosis and the maintenance of homeostasis in the immune system. *Curr Opin Immunol* 8:245–54, 1996.
58. Tilly JL, Kowalski KI, Johnson AL, Hsueh AJ. Involvement of apoptosis in ovarian follicular atresia and postovulatory regression. *Endocrinology* 129:2799–801, 1991.
59. Lund LR, Romer J, Thomasset N, Solberg H, Pyke C, Bissell MJ, Dano K, Werb Z. Two distinct phases of apoptosis in mammary gland involution: proteinase-independent and -dependent pathways. *Development* 122:181–93, 1996.
60. Harman D. Role of free radicals in aging and disease. *Ann N Y Acad Sci* 673:126–41, 1992.
61. Ozawa T. Mechanism of somatic mitochondrial DNA mutations associated with age and diseases. *Biochim Biophys Acta* 1271:177–89, 1995.
62. King KL, Cidowski JA. Cell cycle regulation and apoptosis. *Annu Rev Physiol* 60:601–17, 1998.
63. Kerr JF, Winterford CM, Harmon BV. Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer* 73:2013–26, 1994.
64. Miyashita T, Krajewski S, Krajewska M, Wang HG, Lin HK, Liebermann DA, Hoffman B, Reed JC. Tumor suppressor p53 is a regulator of bcl-2 and bax gene expression in vitro and in vivo. *Oncogene* 9:1799–805, 1994.
65. Smyth MJ, Godfrey DI, Trapani JA. A fresh look at tumor immunosurveillance and immunotherapy. *Nat Immunol* 2:293–9, 2001.
66. Wang XW, Harris CC. p53 tumor-suppressor gene: clues to molecular carcinogenesis. *J Cell Physiol* 173:247–55, 1997.
67. Pietenpol JA, Stewart ZA. Cell cycle checkpoint signaling: cell cycle arrest versus apoptosis. *Toxicology* 181–182:475–81, 2002.
68. Varley JM, Evans DG, Birch JM. Li-Fraumeni syndrome—a molecular and clinical review. *Br J Cancer* 76:1–14, 1997.
69. Gu J, Kawai H, Wiederschain D, Yuan ZM. Mechanism of functional inactivation of a Li-Fraumeni syndrome p53 that has a mutation outside of the DNA-binding domain. *Cancer Res* 61:1741–6, 2001.
70. Ozen OA, Kus MA, Kus I, Alkoc OA, Songur A. Protective effects of melatonin against formaldehyde-induced oxidative damage and apoptosis in rat testes: An immunohistochemical and biochemical study. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 54:169–176, 2008.
71. Kitagawa R, Kastan MB. The ATM-dependent DNA damage signaling pathway. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* LXX 70:99–109, 2005.
72. Kurz EU, Lees-Miller SP. DNA damage-induced activation of ATM and ATM-dependent signaling pathways. *DNA Repair (Amst)* 3:889–900, 2004.
73. Worth A, Thrasher AJ, Gaspar HB. Autoimmune lymphoproliferative syndrome: molecular basis of disease and clinical phenotype. *Br J Haematol* 133:124–40, 2006.
74. Li CJ, Friedman DJ, Wang C, Meteliev V, Pardee AB. Induction of apoptosis in uninfected lymphocytes by HIV-1 Tat protein. *Science* 268:429–31, 1995.
75. Ethell DW, Buhler LA. Fas ligand-mediated apoptosis in degenerative disorders of the brain. *J Clin Immunol* 23:439–46, 2003.
76. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Cellular adaptations, cell injury, and cell death. In Kumar V, Abbas AK, Fausto N, editors. *Pathologic basis of disease*. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier Saunders, 3–46, 2005.
77. Wyllie AH, Kerr JF, Currie AR. Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 68:251–306, 1980.
78. Farber JL, El Mofty SK. The biochemical pathology of liver cell necrosis. *Am J Pathol* 81:237–250, 1975.
79. Yuan J. Evolutionary conservation of a genetic pathway of programmed cell death. *J Cell Biochem* 60:4–11, 1996.
80. Schittny JC, Djonov V, Fine A, Burri PH. Programmed cell death contributes to postnatal lung development. *Am J Respir Cell Mol Biol* 18:786–793, 1998.
81. Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol* 146:3–15, 1995.
82. Trump BF, Berezsky IK, Chang SH, Phelps PC. The pathways of cell death: oncosis, apoptosis, and necrosis. *Toxicol Pathol* 25:82–8, 1997.
83. Savill J, Fadok V. Corpse clearance defines the meaning of cell death. *Nature* 407:784–8, 2000.
84. Kurosaka K, Takahashi M, Watanabe N, Kobayashi Y. Silent cleanup of very early apoptotic cells by macrophages. *J Immunol* 171:4672–9, 2003.
85. Zeiss CJ. The apoptosis-necrosis continuum: insights from genetically altered mice. *Vet Pathol* 40:481–95, 2003.
86. Fiers W, Beyaert R, Declercq W, Vandenebeele P. More than one way to die: apoptosis, necrosis and reactive oxygen damage. *Oncogene* 18:7719–30, 1999.
87. Metzstein MM, Stanfield GM, Horvitz HR. Genetics of programmed cell death in *C. elegans*: past, present and future. *Trends Genet* 14:410–6, 1998.
88. Hoepfner DJ, Hengartner MO, Schnabel R. Engulfment genes cooperate with ced-3 to promote cell death in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 412:202–6, 2001.
89. Diez-Roux G, Lang RA. Macrophages induce apoptosis in normal cells in vivo. *Development* 124:3633–8, 1997.
90. Lang RA, Bishop JM. Macrophages are required for cell death and tissue remodeling in the developing mouse eye. *Cell* 74:453–62, 1993.
91. Little GH, Flores A. Inhibition of programmed cell death by catalase and phenylalanine methyl ester. *Comp Biochem Physiol Comp Physiol* 105:79–83, 1993.
92. Geske FJ, Lieberman R, Strange R, Gerschenson LE. Early stages of p53-induced apoptosis are reversible. *Cell Death Differ* 8:182–191, 2001.
93. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 407:770–776, 2000.
94. Cohen GM. Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem J* 326(1):1–16, 1997.

95. Rai NK, Tripathi K, Sharma D, Shukla VK. Apoptosis: a basic physiologic process in wound healing. *Int J Low Extrem Wounds* 4:138–44, 2005.
96. Hu S, Snipas SJ, Vincenz C, Salvesen G, Dixit VM. Caspase-14 is a novel developmentally regulated protease. *J Biol Chem* 273:29648–53, 1998.
97. Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, Li E, Xu J, Yankner BA, Yuan J. Caspase-12 mediates endoplasmicreticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta. *Nature* 403:98–103, 2000.
98. Kang SJ, Wang S, Kuida K, Yuan J. Distinct downstream pathways of caspase-11 in regulating apoptosis and cytokine maturation during septic shock response. *Cell Death Differ* 9:1115–25, 2002.
99. Bortner CD, Oldenburg NB, Cidlowski JA. The role of DNA fragmentation in apoptosis. *Trends Cell Biol* 5:21–6, 1995.
100. Bratton DL, Fadok VA, Richter DA, Jenai MK, Guthrie LA, Henson PM. Appearance of phosphatidylserine on apoptotic cells requires calcium-mediated nonspecific flip-flop and is enhanced by loss of the aminophospholipid translocase. *J Biol Chem* 272:26159–26165, 1997.
101. Vermeulen K, Bockstaele DRV, Berneman ZN. Apoptosis: mechanisms and relevance in cancer *Ann Hematol* 84: 627–639, 2005.
102. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science* 281:1312–1316, 1998.
103. Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH. Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annu Rev Biochem* 68:383–424, 1999.
104. Duriez PJ, Shah GM. Cleavage of poly(ADP-ribose)polymerase: a sensitive parameter to study cell death. *Biochem Cell Biol* 75:337–349, 1997.
105. Orth K, Chinnaiyan AM, Garg M, Froelich CJ, Dixit VM. The CED-3/ICE-like protease Mch2 is activated during apoptosis and cleaves the death substrate lamin A. *J Biol Chem* 271:16443–16446, 1996.
106. Mashima T, Naito M, Fujita N, Noguchi K, Tsuruo T. Identification of actin as a substrate of ICE and an ICE-like protease and involvement of an ICE-like protease but not ICE in VP-16-induced U937 apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 217:1185–1192, 1995.
107. Song Q, Lees-Miller SP, Kumar S, Zhang Z, Chan DW, Smith GC, Jackson SP, Alnemri ES, Litwack G, Khanna KK, Lavin MF. DNA-dependent protein kinase catalytic subunit: a target for an ICE-like protease in apoptosis. *EMBO J* 15:3238–3246, 1996.
108. Widmann C, Gibson S, Johnson GL. Caspase-dependent cleavage of signaling proteins during apoptosis. A turn-off mechanism for anti-apoptotic signals. *J Biol Chem* 273:7141–7147, 1998.
109. Barkett M, Xue D, Horvitz HR, Gilmore TD. Phosphorylation of I $\kappa$ B $\alpha$  inhibits its cleavage by caspase CPP32 in vitro. *J Biol Chem* 272:29419–29422, 1997.
110. Tan X, Martin SJ, Green DR, Wang JYJ. Degradation of retinoblastoma protein in tumor necrosis factor- and CD95-induced cell death. *J Biol Chem* 272:9613–9616, 1997.
111. Thornberry NA, Bull HG, Calaycay JR, Chapman KT, Howard AD, Kostura MJ, Miller DK, Molineaux SM, Weidner JR, Aunins J et al. A novel heterodimeric cysteine protease is required for interleukin-1 beta processing in monocytes. *Nature* 356:768–774, 1992.
112. Celebi A. Meme kanserli hastalarda CASP8 ve CASP9 gen polimorfizmlerinin ara tirlması. *Düzce-2011*.
113. McCarthy NJ, Whyte MK, Gilbert CS, Evan GI. Inhibition of Ced-3/ICE-related proteases does not prevent cell death induced by oncogenes, DNA damage, or the Bcl-2 homologue Bak. *J Cell Biol* 136:215–227, 1997.
114. Thornberry NA, Peterson EP, Zhao JJ, Howard AD, Griffin PR, Chapman KT. Inactivation of interleukin-1 beta converting enzyme by peptide (acyloxy)methyl ketones. *Biochemistry* 33:3934–3940, 1994.
115. Cauwels A, Janssen B, Waeytens A, Cuvelier C, Brouckaert P. Caspase inhibition causes hyperacute tumor necrosis factor-induced shock via oxidative stress and phospholipase A2. *Nat Immunol* 4:387–393, 2003.
116. Mathiasen IS, Jaattela M. Triggering caspase-independent cell death to combat cancer. *Trends Mol Med* 8:212–220, 2002.
117. Green DR, Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death. *Science* 305:626–629, 2004.
118. Leist M, Jaattela M. Four deaths and a funeral: from caspases to alternative mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2:589–598, 2001.
119. Thome M, Schneider P, Hofmann K, Fickenscher H, Meinel E, Neipel F, Mattmann C, Burns K, Bodmer JL, Schroter M, Scaffidi C, Kramer PH, Peter ME, Tschopp J. Viral FLICE-inhibitory proteins (FLIPs) prevent apoptosis induced by death receptors. *Nature* 386:517–521, 1997.
120. Srinivasula SM, Ahmad M, Otilie S, Bullrich F, Banks S, Wang Y, Fernandes AT, Croce CM, Litwack G, Tomaselli KJ, Armstrong RC, Alnemri ES. FLAME-1, a novel FADD like anti-apoptotic molecule that regulates Fas/TNFR1-induced apoptosis. *J Biol Chem* 272:18542–18545, 1997.
121. Irmeler M, Thome M, Hahne M, Schneider P, Hofmann K, Steiner V, Bodmer JL, Schroter M, Burns K, Mattmann C, Rimoldi D, French LE, Tschopp J. Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP [see comments]. *Nature* 388:190–195, 1997.
122. Nicholson DW. From bench to clinic with apoptosis-based therapeutic agents. *Nature* 407:810–6, 2000.
123. Deveraux QL, Reed JC. IAP family proteins—suppressors of apoptosis. *Genes Dev* 13:239–52, 1999.
124. Uren AG, Coulson EJ, Vaux DL. Conservation of baculovirus inhibitor of apoptosis repeat proteins (BIRPs) in viruses, nematodes, vertebrates and yeast. *Trends Biochem Sci* 23:159–162, 1998.
125. LaCasse E, Baird S, Korneluk R, MacKenzie A. The inhibitors of apoptosis (IAPs) and their emerging role in cancer. *Oncogene* 17:3247–3259, 1998.
126. Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel antiapoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med* 3:917–921, 1997.

127. Van Loo G, van Gurp M, Depuydt B, Srinivasula SM, Rodriguez I, Alnemri ES, Gevaert K, Vandekerckhove J, Declercq W, Vandenabeele P. The serine protease Omi/HtrA2 is released from mitochondria during apoptosis. Omi interacts with caspase-inhibitor XIAP and induces enhanced caspase activity. *Cell Death Differ* 9:20–26, 2002.
128. Livingston DJ. In vitro and in vivo studies of ICE inhibitors. *J Cell Biochem* 64:19–26, 1997.
129. Le GT, Abbenante G. Inhibitors of TACE and Caspase-1 as anti-inflammatory drugs. *Curr Med Chem* 12:2963–77, 2005.
130. Pathan N, Marusawa H, Krajewska M, Matsuzawa S, Kim H, Okada K, Torii S, Kitada S, Krajewski S, Welsh K, Pio F, Godzik A, Reed JC. TUCAN, an antiapoptotic caspase-associated recruitment domain family protein overexpressed in cancer. *J Biol Chem* 276:32220–32229, 2001.
131. Beere HM, Wolf BB, Cain K, Mosser DD, Mahboubi A, Kuwana T, Taylor P, Morimoto RI, Cohen GM, Green DR. Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1 apoptosome. *Nat Cell Biol* 2:469–475, 2000.
132. Hochhauser E, Kivity S, Offen D, Maulik N, Otani H, Barhum Y, Pannet H, Shneyvays V, Shainberg A, Goldshtaub V, Tobar A, Vidne BA. Bax ablation protects against myocardial ischemia-reperfusion injury in transgenic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284:H2351–9, 2003.
133. Hetz C, Vitte PA, Bombrun A, Rostovtseva TK, Montessuit S, Hiver A, Schwarz MK, Church DJ, Korsmeyer SJ, Martinou JC, Antonsson B. Bax channel inhibitors prevent mitochondrion-mediated apoptosis and protect neurons in a model of global brain ischemia. *J Biol Chem* 280:42960–70, 2005.
134. Fadeel B, Orrenius S, Zhivotovsky B. Apoptosis in human disease: a new skin for the old ceremony? *Biochem Biophys Res Commun* 266:699–717, 1999.
135. Joaquin AM, Gollapudi S. Functional decline in aging and disease: a role for apoptosis. *J Am Geriatr Soc* 49:1234–1240, 2001.
136. Fanidi A, Harrington EA, Evan GI. Cooperative interaction between c-myc and bcl-2 proto-oncogene. *Nature* 359:554–556, 1992.
137. Raff MC. Social controls on cell survival and cell death. *Nature* 356:397–400, 1992.
138. Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature* 411:342–348, 2001.
139. Reed JC, Miyashita T, Takayama S, Wang HG, Sato T, Krajewski S, Aime SC, Bodrug S, Kitada S, Hanada M. BCL-2 family proteins: regulators of cell death involved in the pathogenesis of cancer and resistance to therapy. *J Cell Biochem* 60:23–32, 1996.
140. Tsujimoto Y, Yunis J, Onorato SL, Erikson J, Nowell PC, Croce CM. Molecular cloning of the chromosomal breakpoint of B-cell lymphomas and leukemias with the t(11;14) chromosome translocation. *Science* 224:1403–1406, 1984.
141. Puthier D, Derenne S, Barille S, Moreau P, Harousseau JL, Bataille R, Amiot M. Mcl-1 and Bcl-XL are co-regulated by IL-6 in human myeloma cells. *J Cell Biol* 97:1235–1239, 1999.
142. Michels J, Johnson PW, Packham G. Mcl-1. *Int J Biochem Cell Biol* 37:267–271, 2005.
143. Rampino N, Yamamoto H, Ionov Y, Li Y, Sawai H, Reed JC, Perucho M. Somatic frameshift mutations in the BAX gene in colon cancers of the microsatellite mutator phenotype. *Science* 275:967–969, 1997.
144. Brimmell M, Mendiola R, Mangion J, Packham G. BAX frameshift mutations in cell lines derived from human haemopoietic malignancies are associated with resistance to apoptosis and microsatellite instability. *Oncogene* 16:1803–1812, 1998.
145. Zamzami N, Brenner C, Marzo I, Susin SA, Kroemer G. Subcellular and submitochondrial mode of action of Bcl-2-like oncoproteins. *Oncogene* 16:2265–2282, 1998.
146. Miyashita T, Reed JC. Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human bax gene. *Cell* 80:293–299, 1995.
147. Soengas MS, Alarcon RM, Yoshida H, Giaccia AJ, Hakem R, Mak TW, Lowe SW. Apaf-1 and caspase-9 in p53-dependent apoptosis and tumor inhibition. *Science* 284:156–159, 1999.
148. Owen-Schaub LB, Zhang W, Cusack JC, Angelo LS, Santee SM, Fujiwara T, Roth JA, Deisseroth AB, Zhang WW, Kruzel E et al. Wild-type human p53 and a temperaturesensitive mutant induce Fas/APO-1 expression. *Mol Cell Biol* 15:3032–3040, 1995.
149. Sheikh MS, Burns TF, Huang Y, Wu GS, Amundson S, Brooks KS, Fornace AJ Jr, el Deiry WS. p53-dependent and -independent regulation of the death receptor KILLER/DR5 gene expression in response to genotoxic stress and tumor necrosis factor alpha. *Cancer Res* 58:1593–1598, 1998.
150. Levine AJ. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 88:323–331, 1997.
151. Schwartz D, Rotter V. p53-dependent cell cycle control: response to genotoxic stress. *Semin Cancer Biol* 8:325–336, 1998.
152. Muller M, Strand S, Hug H, Heinemann EM, Walczak H, Hofmann WJ, Stremmel W, Krammer PH, Galle PR. Drug-induced apoptosis in hepatoma cells is mediated by the CD95 (APO-1/Fas) receptor/ligand system and involves activation of wild-type p53. *J Clin Invest* 99:403–413, 1997.
153. Oren M. Regulation of the p53 tumor suppressor protein. *J Biol Chem* 274:36031–36034, 1999.
154. Srivastava S, Zou ZQ, Pirolo K, Blattner W, Chang EH. Germ-line transmission of a mutated p53 gene in a cancer-prone family with Li-Fraumeni syndrome [see comments]. *Nature* 348:747–749, 1990.
155. Sherr CJ, Weber JD. The ARF/p53 pathway. *Curr Opin Genet Dev* 10:94–99, 2000.
156. Khanna KK, Jackson SP. DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection. *Nat Genet* 27:247–254, 2001.
157. Fisher GH, Rosenberg FJ, Straus SE, Dale JK, Middleton LA, Lin AY, Strober W, Lenardo MJ, Puck JM. Dominant interfering Fas gene mutations impair apoptosis in a human autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Cell* 81:935–946, 1995.
158. Teitz T, Wei T, Valentine MB, Vanin EF, Grenet J, Valentine VA, Behm FG, Look AT, Lahti JM, Kidd VJ. Caspase 8 is deleted or silenced preferentially in childhood neuroblastomas with amplification of MYCN. *Nat Med* 6:529–535, 2000.



159. Soung YH, Lee JW, Kim SY, Jang J, Park YG, Park WS, Nam SW, Lee JY, Yoo NJ, Lee SH. CASPASE-8 gene is inactivated by somatic mutations in gastric carcinomas. *Cancer Res* 65:815–821, 2005.
160. Li F, Ambrosini G, Chu EY, Plescia J, Tognin S, Marchisio PC, Altieri DC. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin. *Nature* 396:580–584, 1998.
161. Li F. Role of survivin and its splice variants in tumorigenesis. *Br J Cancer* 92:212–216, 2005.
162. Schmitt CA, Lowe SW. Apoptosis and therapy. *J Pathol* 187:127–137, 1999.
163. Campos L, Rouault JP, Sabido O, Oriol P, Roubi N, Vasselon C, Archimbaud E, Magaud JP, Guyotat D. High expression of bcl-2 protein in acute myeloid leukemia cells is associated with poor response to chemotherapy. *Blood* 81:3091–3096, 1993.
164. Simonian PL, Grillot DA, Nunez G. Bcl-2 and Bcl-XL can differentially block chemotherapy-induced cell death. *Blood* 90:1208–1216, 1997.
165. Minn AJ, Rudin CM, Boise LH, Thompson CB. Expression of bcl-xL can confer a multidrug resistance phenotype. *Blood* 86:1903–1910, 1995.
166. Kroemer G, Reed JC. Mitochondrial control of cell death. *Nat Med* 6:513–519, 2000.
167. Friesen C, Herr I, Krammer PH, Debatin KM. Involvement of the CD95 (APO-1/FAS) receptor/ligand system in drug-induced apoptosis in leukemia cells. *Nat Med* 2:574–577, 1996.
168. Fulda S, Sieverts H, Friesen C, Herr I, Debatin KM. The CD95 (APO-1/Fas) system mediates drug-induced apoptosis in neuroblastoma cells. *Cancer Res* 57:3823–3829, 1997.
169. Selleri C, Sato T, Del Vecchio L, Luciano L, Barrett AJ, Rotoli B, Young NS, Maciejewski JP. Involvement of Fas-mediated apoptosis in the inhibitory effects of interferon-alpha in chronic myelogenous leukemia. *Blood* 89:957–964, 1997.
170. Min YH, Lee S, Lee JW, Chong SY, Hahn JS, Ko YW. Expression of FAS antigen in acute myeloid leukemia is associated with therapeutic response to chemotherapy. *Br J Haematol* 93:928–930, 1996.
171. Medema JP, de Jong J, Peltenburg LT, Verdegaal EM, Gorter A, Bres SA, Franken KL, Hahne M, Albar JP, Melief CJ, Offringa R. Blockade of the granzyme B/perforin pathway through overexpression of the serine protease inhibitor PI-9/SPI-6 constitutes a mechanism for immune escape by tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:11515–11520, 2001.
172. Zhang H, Levitt ML. Antisense bcl-2 treatment increases programmed cell death in non-small cell lung cancer cell lines. *Lung Cancer* 23:115–127, 1999.
173. Keith FJ, Bradbury DA, Zhu YM, Russell NH. Inhibition of bcl-2 with antisense oligonucleotides induces apoptosis and increases the sensitivity of AML blasts to Ara-C. *Leukemia* 9:131–138, 1995.
174. Banerjee D. Genasense (Genta Inc). *Curr Opin Investig Drugs* 2:574–580, 2001.
175. Kitada S, Takayama S, De Riel K, Tanaka S, Reed JC. Reversal of chemoresistance of lymphoma cells by antisense-mediated reduction of bcl-2 gene expression. *Antisense Res Dev* 4:71–79, 1994.
176. Rudin CM, Kozloff M, Hoffman PC, Edelman MJ, Karnauskas R, Tomek R, Szeto L, Vokes EE. Phase I study of G3139, a bcl-2 antisense oligonucleotide, combined with carboplatin and etoposide in patients with small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 22:1110–1117, 2004.
177. Raje N, Kumar S, Hideshima T, Roccaro A, Ishitsuka K, Yasui H, Shiraishi N, Chauhan D, Munshi NC, Green SR, Anderson KC. Seliciclib (CYC202 or R-Roscovitine), a small molecule cyclin dependent kinase inhibitor, mediates activity via downregulation of Mcl-1 in multiple myeloma. *Blood* prepublished online Apr 12 183. Koty PP, 2005.
178. Tai YT, Strobel T, Kufe D, Cannistra SA. In vivo cytotoxicity of ovarian cancer cells through tumor-selective expression of the Bax gene. *Cancer Res* 59:2121–2126, 1999.
179. Grad JM, Cepero E, Boise LH. Mitochondria as targets for established and novel anti-cancer agents. *Drug Resist Updat* 4:85–91, 2001.
180. Costantini P, Jacotot E, Decaudin D, Kroemer G. Mitochondrion as a novel target of anticancer chemotherapy. *J Natl Cancer Inst* 92:1042–1053, 2000.
181. Lane PD, Lain S. Therapeutic exploitation of the p53 pathway. *Trends Mol Med* 8:38–42, 2002.
182. Karin M, Cao Y, Greten FR, Li ZW. NF-kappaB in cancer: from innocent bystander to major culprit. *Nat Rev Cancer* 2:301–310, 2002.
183. Rayet B, Gelinas C. Aberrant rel/nfkb genes and activity in human cancer. *Oncogene* 18:6938–6947, 1999.
184. Fahy BN, Schlieman MG, Mortenson MM, Virudachalam S, Bold RJ. Targeting BCL-2 overexpression in various human malignancies through NF-kappaB inhibition by the proteasome inhibitor bortezomib. *Cancer Chemother Pharmacol* 56:46–54, 2005.
185. Nikrad M, Johnson T, Puthalalath H, Coultas L, Adams J, Kraft AS. The proteasome inhibitor bortezomib sensitizes cells to killing by death receptor ligand TRAIL via BH3-only proteins Bik and Bim. *Mol Cancer Ther* 4:443–449, 2005.
186. Blagosklonny MV. Hsp-90-associated oncoproteins: multiple targets of geldanamycin and its analogs. *Leukemia* 16:455–462, 2002.
187. Schmitt CA, Lowe SW. Apoptosis is critical for drug response in vivo. *Drug Resist Updat* 4:132–134, 2001.