

Bölüm 2

HÜCRE ÖLÜMÜNE GENEL BAKIŞ VE GÜNCEL HÜCRE ÖLÜMÜ MEKANİZMALARI

Gizem AYNA DURAN¹

GİRİŞ

Vücudumuzda yaşam döngüsünü tamamlayıp sağlıklı yaşlanmış hücreler ve hasar görmüş hücreler de dahil olmak üzere günde milyonlarca hücre yerlerine sağlıklı yeni hücrelerin gelmesi amacıyla ölmektedir. Hücre ölümü, ölü ya da ölmekte olan hücre tanımını ve hücre ölümü çeşitlerini bilimsel çalışma ve yayınlanan bilimsel makalelere dayandırarak sınıflandıran ve bu sınıflandırmayı seriler halinde güncel bilgiler ışığında yayınlayan bir “Hücre Ölümü Adlandırma Komitesi- The Nomenclature Committee on Cell Death (NCCD) mevcuttur. Komisyonun amacı hücre ölümü alanında devam eden bilimsel çalışmaların çıktılarını göz önünde tutarak hücre ölümü konusunda kabul görmüş bir isimlendirme ve sınıflandırma sağlamaktır (1). Bu amaç doğrultusunda farklı hücre ölümü çeşitleri farklı açılardan (örneğin morfolojik, biyokimyasal, fonksiyonel ve terapötik uygulamalar) değerlendirilmektedir ve bu konuda araştırmacılar arasında tartışma ve görüş paylaşımı ortamı yaratılmıştır. Böylece ortak bir dil ile oluşturulmuş esnek kavramlar geliştirilmiştir ve hücre ölümü çalışan bilim insanları arasında iletişim kurulması sağlanmıştır (2). Komite 2005 yılından bu yana beş derleme makale yayınlamıştır (1–5). Komitenin 2005 ve 2009 yıllarında yayınlanan derlemelerinde hücre ölümü litetratüründeki kavramlardan ve hücre ölümünün sınıflandırılmasından bahsedilmiştir (2,5). Bir sonraki derleme makalesinde ise (4) ise hücre ölümü alt tiplerinin moleküler düzeyde meydana gelen süreçleri açıklanmıştır. 2015 yılındaki derlemede komite hücre ölümüne farklı bir bakış açısı kazandırmak adına hücre ölümünü “gerekli” (essential) ya da “yardımcı” (accessory) yönden değerlendirmiştir. Bir diğer deyişle hücre ölümü mekanizmalarının sırasıyla etiyolojik ve morfolojik /biyokimyasal yönden ne şekilde meydana geldiği özetlenmiştir (3). Komitenin 2018 yılında yayınladıkları son derlemede ise hücre ölümünün moleküler mekanizmalarına derinlemesine değinilmiştir (1). Bu kitap bölümünde hücre ölümü araştırmalarının sonuçlarını içeren güncel literatür bulguları derlenmiştir ve hücre ölümü alanında yapılan çalışmalar özetlenmiştir.

¹ Dr. İzmir Ekonomi Üniversitesi, gizem.duran@ieu.edu.tr

Hücre Ölümü Çalışmalarının Tarihçesi

Hücre ölümü çalışmalarının ilk kez gerçekleştirildiği yıllarda hücre ölümü mekanizmaları teknik kısıtlılıklar nedeniyle sadece morfolojik ve yapısal kriterlere göre sınıflandırılmıştır (2,3,6). Paolo Mazzarelli'nin 1999 yılında yayınladığı derlemede "hücre teorisi" çalışmalarından bahsedilmiştir ve 19. Yüzyılda gerçekleştirilen çalışmaların "hücre ölümü" çalışmalarına temel hazırlar nitelikte olduğu gösterilmiştir (7). Örneğin; 1838 yılında Matthias Jakob Schleiden, Theodor Schwann ve Rudolf Carl Virchow gibi birçok araştırmacının yer aldığı çalışmada yaşayan bir organizmanın birçok hücreden ve onların ürünlerinden oluştuğu, bu hücrelerin hayatın en temel yapıtaşı olduğu ve her hücrenin hâlihazırda yaşayan bir diğer hücreden türediğini gösterilmiştir (3,7). 1842 yılında Vogt ve arkadaşları ise ilk defa omurgalılarda normal gelişim süreçlerinde hücre ölümünün gerçekleştiğini göstermişlerdir (8,9). Ayrıca 1885 yılında Walter Flemming ve arkadaşları çalışmalarında hücre ölümü gerçekleşen hücrelerdeki morfolojik değişikliklere değinerek günümüzde apoptoz mekanizmalarına odaklanmış çalışmalara yön verecek kavramlara değinmiştir (3,8). 1964 yılında henüz hücre ölümü üzerine çalışmaların sayısı çok kısıtlı iken Amerikalı biyolog Richard A. Lockshin apoptoz üzerine çalışmalar gerçekleştirmiştir ve günümüzde kullanılan "programlanmış hücre ölümü" tanımının kullanılmasına katkıda bulunacak bulgular elde etmiştir. Çalışmasında ipekböceğinin kas hücrelerinde meydana gelen programlı hücre ölümü sürecini incelemiştir (10). Kerr ve arkadaşları 1971 yılında apoptotik hücre ölümünün patolojik olmayan hücre ölümü formunun "shrinkage nekroz" olarak adlandırdıkları makalelerini yayınlamıştır (11). Kerr ve arkadaşları 1972 yılında yayınladıkları bir diğer bilimsel makalede ise hücre ölümünü apoptoz (genetik olarak kontrol edilen programlanmış hücre ölümü) ve nekroz (programlanmamış hücre ölümü) olacak şekilde iki başlık altında değerlendirmiştir ve omurgalı hücrelerinin hücre ölüm süreçlerinde "apoptoz" terimi ile defa kullanılmıştır (12). Schweilchel ve Merker'in 1973 yılında gerçekleştirdikleri çalışmada prenatal dokularda embriyotoksik maddeler tarafından etkilenen (treated) hücrelerde meydana gelen hücre ölümünü morfolojik özelliklerine göre sınıflandırılmıştır. Çalışmada Tip 1 hücre ölümü apoptotik hücre ölümü olarak adlandırılmıştır ve hücre büzülmesi (pyknosis), zar oluşması (membrane blebbing), apoptotik cisimcik (apoptotic body) oluşumu, DNA fragmantasyonu (karyorrhexis) ve kromatin yoğunlaşması (chromatin condensation) süreçleri ile karakterize edilmiştir (11,13). Bunun yanında 1990 yılında Clark ve arkadaşları morfolojik özellikleri göz önünde bulundurarak hücre ölümünü üç ana grupta toplamıştır; apoptoz (tip 1), otofajik hücre ölümü (tip 2) ve lizozomal olmayan hücre ölümü (tip 3) (14). Hücre ölümü literatürüne katkı sağlayan 1800'li yıllardan 2000'li yılların başlarına kadar yayınlanmış çalışmaları incelemek için lütfen ilgili kaynağa gidiniz (8).

Apoptotik hücre ölümü genetik olarak programlanmış hücre ölümü olarak sınıflandırılırken “raslantısal” olarak meydana gelen “programsız” ve aşırı stress koşullarında meydana gelen hücre ölümüne ise “nekrotik hücre ölümü” denmektedir. Otofajik hücre ölümü programlanmış bir hücre ölüm çeşidi olarak kabul edilmektedir ve 1990’lı yılların başında maya otofaji genlerinin çalışılması ve daha sonrasında memeli hücrelerindeki eş değer genlerinin gösterilmesi ile gündeme gelmiştir (15–18). İlerleyen yıllarda ise “programlanmış” hücre ölümü terimi sadece apoptoz için değil otofajik hücre ölümü de dahil olmak üzere birçok çeşit hücre ölüm mekanizması için de kullanılmaya başlanmıştır ve araştırmacıların zihinlerinde yerleşmiş “programlı hücre ölümü=apoptoz” algısı kırılmıştır. Tüm hücre ölümü çeşitlerinden ilerleyen kısımlarda bahsedilecektir. İlk olarak literatürde “ölü” (dead) ve “ölmekte olan” (dying) hücre kavramlarının nasıl gelişim gösterdiğinden bahsetmek yerinde olacaktır.

“Ölü” ve “Ölmekte olan hücre” Kavramları

Literatüre göre en güncel “hücre ölümü” tanımı şöyledir:

Hücresel bütünlük kaybıyla sonuçlanan hayati hücresel fonksiyonların (özellikle ATP üretimi ve redoks homeostazının korunması gibi) geri dönüşümsüz dejenerasyonu (kalıcı plazma zarı geçirgenliği veya hücresel parçalanma) (1).

Bir hücre “geriye dönüş” olmadığı durumlar söz konusu olduğu zaman “ölü” hücre olarak değerlendirilmektedir. Bu durumda komite çalışmalar ışığında bazı kriterler belirlemiştir:

1. Hücre *in vitro* vital boyalar ile boyanabilir durumda ise, diğer yandan hücre plazma membranının bütünlüğünün bozulduğu durumlarda.
2. Hücrenin nükleusunun tamamen fragmente olduğu durumlarda (sıklıkla apoptotik cisimler olarak adlandırılır.)
3. *In vivo* şartlarda bitişik (adjacent) hücreler tarafından hücre parçalarının ya da fragmanlarının hücre içine alındığı (being engulfed) ve geri dönüşümsüz olarak parçalandığı durumlarda. (5).

Güncel bilgilere göre hücreler fagositoz ile diğer hücreler tarafından yenmektedir (engulfed) ve çoğunlukla hücre içeren fagozom lizozom ile birleşerek fagozomal kargı yapısı lizozomal hidrolazlar tarafından degrades edilmektedir (3,19–21). Fakat, her zaman hücre içine alınan (being engulfed) hücre parçalanmamakta ve canlılığını koruyacak şekilde bazı koşullar altında fagozomlardan hücre dışına salınmaktadır (3,22). Bu nedenle, NCCD komitesi hücrenin ancak geri dönüşümsüz olarak plazma membrane parçalandığında “ölü” olarak değerlendirilmesi gerektiğini savunmaktadır. *In vitro* ve *in vivo* koşullar altında hücre ölümünün son aşamasına gelmiş hücrelerin tayin edilmesi için kullanılan yöntemler için ilgili yayınlar incelenebilir (3,6,23–25).

HÜCRE ÖLÜMÜNÜN “PROGRAMLI” YA DA “PROGRAMSIZ” GERÇEKLEŞMESİ

Güncel literatürde hücre ölümü genel olarak 2 ana başlık altında değerlendirilmektedir.

- 1. Ani Gelişen Hücre Ölümü (ACD):** Aşırı fiziksel, kimyasal veya mekanik stresin neden olduğu plazma zarının fiziksel olarak parçalanmasına karşılık gelen, stres anında tetiklenen ve kontrol edilemeyen hücre ölümü çeşididir. Bu “Ani Gelişen Hücre Ölümü” (Accidental cell death-ACD) çeşidinde aşırı fiziksel, kimyasal veya mekanik uyaranlara maruz kalan hücrelerde yapısal bütünlük stres ile karşı karşıya kalındığında kontrol edilemeyen bir şekilde kaybedilebilir. (1,3).
- 2. 2. Regüle edilen hücre ölümü (RCD):** Alternatif olarak, hücre ölümü genetik olarak kodlanmış bir mekanizma şeklinde başlatılabilir ve bu “Regüle Edilen Hücre Ölümü” (Regulated cell death-RCD) sürecinin seyri, en azından bir düzeye kadar spesifik farmakolojik veya genetik müdahalelerden etkilenebilir. Programlanmış Hücre Ölümü (Programmed cell death-PCD) ise “regulated-düzenlenmiş hücre ölümü” başlığı altında organizmanın gelişim sürecinin bir parçası olan olaylar sırasında veya fizyolojik yetişkin doku homeostazını korumak için meydana gelen süreçler sırasında gerçekleşen hücre ölümü çeşididir. (1,3).

Regüle edilen (regulated) ve programlanmış (programmed) hücre ölümünün hücresel düzeyde gerçekleşen mekanizmalara göre sınıflandırılması

Hücre ölümü güncel literatürde aşağıda gösterildiği gibi 4 farklı gruba ayrılmıştır ve bahsi geçen ve burada bahsedilmemiş tüm hücre ölümü çeşitleri ilerleyen bölümlerde anlatılacaktır. Hücre ölümü morfolojik kriterler, fonksiyonel ve upstream süreçler, immünoloji etki ve terapötik uygulamalar olarak beş ana grupta sınıflandırılabilir

1. Morfolojik Kriterlere Göre Hücre Ölümü Çeşitlerinin Sınıflandırılması

Hücre ölümü çalışmalarının başlarında apoptotik hücre ölümü morfolojik kriterler göz önüne alındığında yegane programlanmış (programmed) tip-1 hücre ölümü çeşidi olarak bilinmektedir. Bunun yanı sıra otofajik hücre ölümü morfolojik kriterlere göre tip-2 olarak sınıflandırılırken apoptotic ve otofajik özellikler gözlenmeyen nekrotik hücre ölümü de bilinen tek ani gelişen (accidental) tip-3 hücre ölümü olarak kabul edilmektedir (3,26). Klasik yaklaşıma göre ani gelişen (accidental) nekrotik hücre ölümü sırasında meydana gelen morfolojik değişikliklerin sitoplazmanın şişmesi, organellerin parçalanması (oncosis), kromatin

kondensasyonu ve düzensiz parçalara ayrılması ve nükleer membran dilatasyonu şeklinde olduğu gösterilmiştir (27). Halbuki, güncel çalışmalar nekrotik apoptotik morfoloji gösteren fakat farklı ajanlar ile muamele sonucunda ve genetik manüplasyonlar ile karışık ya da farklı morfolojiler gözlenen regüle edilen (regulated) hücre ölümü süreçlerinin varlığından bahsetmektedir. Örneğin; otofajik hücre ölümü teriminin kullanımı hakkında literatürde hatalı kullanımlar mevcuttur. Sadece otofajik vakuollerin gözlenmesi tip II bir diğer deyişle otofajik hücre ölümü gerçekleştiği hakkında yeterli bilgi sağlamamaktadır (28). Otofajik hücre ölümü sırasında otofajik akı (autophagic flux) bazında değerlendirme yapılması gerektiği gösterilmiştir. Otofajik yolağın genetik düzeyde ve farmakolojik ajanlar ile inhibe edilmesi sonucunda otofajik akıda meydana gelen değişiklik (örneğin otofajik vakuollerin sayısında artış ve birikmesi) sonucu hücre ölümünün otofajik hücre ölümü olup olmadığına karar verilmektedir (4,29). Otofajik Hücre Ölümü bir sonraki bölümde ayrıntılı bir şekilde bahsedileceğinden dolayı burda bahsi geçmemektedir. Benzer bir şekilde apoptotik ve nekrotik hücre ölümü özelinde de genetik manüplasyonlar ve terapötik ajanlar (kaspaz inhibitörleri) ile muamele sonrasında hücre ölümü süreci morfolojik değişikliğe uğramaktadır. Bir başka deyişle, regüle edilen (regulated) bazı hücre ölümü çeşitleri farklı muameleler sonucunda karışık morfolojik özellikler göstermektedir. Örneğin; Z-VAD-fmk ve Q-VD-OPh gibi kaspaz inhibitörleri nükleer piknoz ya da küçülme (pyknosis) ve tomurcuklanma (blebbing) gibi apoptoza özgü morfolojik özelliklerin önlenmesine yol açmaktadır (30,31). Bir diğer çalışmada ise RIPK1 (receptor-interacting protein kinase 1) inhibitörü olan nekrostatin (Nec-1) ve ısı-şok protein 90 kDa alfa sınıf A1 (HSP90AA1) hedefleyen geldanamisininin regüle edilen (regulated) hücre ölümü sürecinde nekrotik morfolojiden sapmalar meydana getirdiği gösterilmiştir (32). Diğer spesifik örnekler için lütfen Hücre Ölümü Adlandırma Komitesi'nin 2015 yılında yayınladıkları derlemeye ve araştırma makalelerine bakınız (3). Özet olarak, hücre ölümünün sadece morfolojik kriterlere göre sınıflandırılması hücre ölümü çalışmalarında hatalı yorumlara ve dolayısıyla da deneysel ve terapötik kurguların hatalı yapılmasına neden olmaktadır.

2. Fonksiyonel ve Üst (Upstream) Süreçlere Göre Hücre Ölümü Çeşitlerinin Sınıflandırılması

Hücre ölümü fonksiyonel yönden düşünüldüğünde programlı hücre ölümü, ani gelişen (accidental) hücre ölümü, kaspaz enzimlerinden bağımsız apoptoz gibi sınıflandırılmaktadır. Buna göre bir önceki bölümde anlatılan “ani” (accidental) ve “regüle edilen” (regulated) hücre ölümü çeşitlerinden bahsetmek gerekirse, farklı şekilde adlandırılan her hücre ölümü çeşidinin sürece özgü bir mekanizma ile gerçekleştiği düşünülmektedir (5). Örneğin; apoptotik hücre ölümü şeklinde

adlandırılan hücre ölüm çeşidinin farklı uyaranlar ve farklı hücre çeşitlerinde kaspaz enzimlerine bağımlı bir mekanizma ile gerçekleşebileceği gibi kaspaz enzimlerinden bağımsız bir şekilde de meydana gelebileceği göz önünde bulundurulmalıdır (2,4,33,34). Bilimsel araştırmalar sonucunda “apoptotic hücre ölümü” olarak adlandırılan sürecin aslında extrinsic apoptoz, kaspaz-bağımlı apoptoz, kaspaz-bağımsız apoptoz şeklinde farklı mekanizmalar halinde meydana geldiği gösterilmektedir (4).

3. İmmünolojik etkiye göre hücre ölümü çeşitlerinin sınıflandırılması

Hücre ölümü immün sistemin uyarılmasına neden olacak şekilde gerçekleşebilir ve immüniteyi “ölü” hücre antijenleri aracılığıyla uyarabilir. Apoptotik hücre ölümü immünolojik olarak sessiz ve hatta tolerojenik olarak bilinmektedir (35–39). Apoptotik hücrelerde plazma zarının bütünlüğü ve metabolik aktivitesi bir dereceye korunur ve in vivo şartlarda apoptotik cisimler (bodies) parçalanmadan ve içeriklerini hücreler arası ortama salıp immünojenik etki yaratmadan makrofajlar veya fagositik aktiviteye sahip diğer hücreler tarafından hızlı bir şekilde fagosit edilirler (efferositoz mekanizması) ve ortamdan temizlenirler (1) (40). Fadok ve arkadaşları tarafından apoptotik lenfositlerde membran fosfolipid asimetrik yapısının kaybolduğunu ve fosfatidilserinin (PS) plazma zarının iç kısmından dış kısmına çıktığını göstermiştir. Ayrıca, dış zarında PS bulunan apoptotic lenfositlerin makrofajlar tarafından fagosit edildiği ve PS’in makrofajlar tarafından apoptotic hücrelerin tanınmasında spesifik bir tanıma aracı olduğu gösterilmiştir (41). Bunun yanında çalışmalar kalretikulin isimli proteinin de ölen hücreyi içine alan hücre yüzeyinde bulunan LDL-reseptör ilişkili proteine bağlanarak fosfatidilserin ile beraber tanıma sinyal yolağında görevli olduğunu göstermiştir (42,43).

Tümör hücrelerinde immünojenik hücre ölümü, zamanından önce hücre dışına salgılanan ATP, calreticulin, ısı şok proteinlerinin (HSP70, HSP90 gibi) hücre yüzeyinde bulunması ve proinflamatuvar faktör yüksek mobilite grubunun (HMGB1) geç salınması gibi durumlarda immün tepkilere yol açmaktadır (54, 64). Doksorubisin isimli anti-kanserojen ajan kanser hücrelerinde kalretikulinin hücre yüzeyinde bulunmasına ve böylece fagositik hücrelerde inflamazom aktivasyonuna neden olmaktadır (59). Buna rağmen otofajik ölen MCF-7 meme kanseri hücrelerinde kalretikulinin genetik olarak baskılanması (knock-down) fagositik hücrelerde inflamazom aktivasyonunu önlememiştir (48).

Son yıllarda farklı koşullar altında apoptotik hücre ölümüne maruz kalmış hücrelerin in vivo ve in vitro koşullarda immün yanıtı tetikledikleri gösterilmiştir (1,44,45). Örneğin, hemaglutinin eksprese eden SAB1

mezotelioma hücrelerinde gemsitabin ile hücre ölümü indüklendiğinde in vivo koşullarda CD8 T hücrelerin prime edildikleri ve etkin bir anti-tümör immün yanıt geliştiği gösterilmiştir (46). Ayrıca, lokal olarak gama ışınları ile yapılan radyasyon maruziyeti sonucunda OVA-transfekte edilmiş B16F10 tümör hücrelerinin antitümör efektör hücreleri uyardığı ve tümör bölgesine çağırdığı gözlenmiştir (35,47). “İmmünojenik hücre ölümü- ICD” 2005 yılında Casares ve arkadaşları kolon kanseri hücre hatlarında antrasiklin ile indüklenmiş hücre ölümünün birçok neoplazi rodent modellerinde in vivo koşullarda immün yanıtı tetiklediği göstermiştir. Bu çalışmada tüm kemoterapi ajanları olmasa da doksorubisin ya da antrasiklin gibi ajanların in vivo ve in vitro şartlarda etkin antitümör immün yanıtı oluşturabildiği gösterilmiştir (11,35). Ayrıca adjuvanlar varlığında enflamatuar yanıtın artıyor olması etkin antitümör aşılmasının geliştirilmesinin de yolunu açmaktadır. Bu bulgulara zıt olarak doksorubisin ile muamele edilen meme kanseri hücre hattında (MCF-7) immün yanıtın gelişmediği gösterilmiştir. Diğer yandan tamoksifen ile muamele edilmiş ve açlık (starvation) şartları altında bırakılan MCF-7 insan meme kanseri hücre hattında otofajik hücre ölümünün tetiklendiği gösterilmiştir. Bu otofajik hücrelerin insan makrofajları tarafından yendikten sonra (engulfment) inflamazom aktivasyonu sonucunda enflamatuar yanıtın oluşmasına neden olduğu gösterilmiştir (48). Benzer bir şekilde, sağlıklı mı için gerekli olan IL-3 (interleukin-3) yokluğunun sağlandığı açlık şartlarında (starvation) fare kökenli Ba/F3 hücrelerinde otofajik hücre ölümü gözlenmektedir ve fare peritoneal ve kemik iliği kökenli makrofajlarda inflamazom aktivasyonu aracılığıyla enflamatuar yanıtı tetiklediği görülmüştür (49).

İmmünojenik ölen hücrelerin yol açtığı akut veya kronik bir enflamatuar yanıt sadece doku rejenerasyonunu teşvik etmekle ve tümörü baskılamakla kalmaz, aynı zamanda doku hasarına ve hastalığa da neden olabilir (11,50). Bu nedenle immünojenik etkinin arttırıldığı süreçlerde rol oynayan anahtar araçların ve sinyal yollarının detaylı araştırılması ve etkileşim gösterdiği diğer süreç ve mekanizmaların iyi tespit edilmesi gerekmektedir.

Bağışıklık sisteminin farklı hücre ölümü türleri arasında nasıl bir ayırım yaptığı konusu ise güncelliğini koruyan bir araştırma sorusudur. Literatürdeki çalışmalara dayanılarak, bu soru iki genel yaklaşım aracılığıyla cevaplanabilmektedir, ilk olarak farklı hücre ölümü süreçleri sonucunda ortaya çıkan yanıtlar ve mekanizmalar araştırılmaktadır. İkincil olarak da ölmekte olan hücreler tarafından üretilen sinyaller ve salınan biyoaktif moleküller incelenmektedir (45).

İlk yaklaşıma göre farklı hücre ölümü süreçleri farklı immün yanıt oluşumunu tetiklemektedir. Örneğin fizyolojik bir hücre ölümü çeşidi olarak kabul edilen apoptotik hücre ölümü literatürde genel olarak tolerojenik olarak bilinirken;

patolojik hücre ölümü olarak kabul edilen nekrotik hücre ölümü ise immünojeniktir ve enflamatuvar yanıtın oluşmasını sağlar (51). Halbuki, yapılan diğer bazı çalışmalarda apoptotik hücre ölümü sürecine maruz kalan hücrelerin kuvvetli bir şekilde immünojenik etki gösterebileceği hatta bazı durumlarda nekrotik hücrelerin daha az immünojenite sergilediği gözlenmiştir (35,52). Literatürde hücre ölümü süreçleri üzerine yapılan araştırmalar derinleşmektedir ve hücre ölümünün immün sisteme olan etkilerine göre gruplandırılması güçleşmektedir. Bu bağlamda sağlıklı bir sınıflandırma yapılabilmesi için önerilen hücre ölümünün ilk etapta immünojenik ya da immünojenik olmayan olarak sınıflandırılması, daha sonra da aşağıda açıklanan ve ikinci yaklaşımda bahsedilen ölmekte olan ya da ölen hücrelerden salınan tehlike sinyalleri içeren moleküllerin varlığı ve immün sistem üzerindeki etkilerinin incelenmesidir (45).

İkinci yaklaşıma göre ölmüş ya da ölmekte olan hücrelerden salınan tehlike ilişkili moleküler kalıplar (danger associated molecular patterns; DAMPs) immünojenik ya da tolerojenik hücre ölümü arasındaki dengenin oluşumunu regüle eden önemli faktörlerini oluşturmaktadır (45). İmmün sistem patojen ilişkili moleküler kalıplar (pathogen associated molecular patterns; PAMPs) (örneğin; bakteriyel hücre duvarı veya viral RNA) ve endojen DAMP'lar olmak üzere iki tip tehlike sinyalini tanıyabilmektedir (11,53). PAMP'lar mikroplardan salınan biyoaktif moleküller ya da mikrobiyal kalıplar patern tanıyan reseptörler (pattern recognition patterns; PRRs) tarafından tanınan tehlike sinyalleridir. Endojen DAMP'lar ise PAMP'lar ile aynı PRR'ler tarafından tanınırlar ve bu moleküller protein yapıda (HMGB1, histonlar, transkripsiyon faktör A, TFAM gibi mitokondriyal moleküller) olabildikleri gibi protein olmayan (DNA, RNA, ekstraselüler ATP) yapılar da olabilmektedirler. DAMP'ların salınması birçok çeşit hücre ölümü ile ilişkilendirilebilmektedir (11,54). DAMP'lar TLR'ler, gelişmiş glikosilasyon son ürüne özgü reseptörler (AGER, RAGE olarak da bilinir), ve farklı lökositlerde ve diğer hücre tiplerinde eksprese edilen DNA sensörleri gibi farklı PRR'leri aktive ederler (11,53). Örneğin; RIPK1-NF- κ B (55), DNA-TMEM173 (56) ve IL-17A-IL-17R (57) gibi enflamasyon ilişkili birçok yolağın, ICD ile ilişkili immün tepkiye aracılık ettiği gösterilmiştir (11). Bununla birlikte, başka bir çalışma ise nekroptotik hücrelerin immünojenikliğinin, RIPK3-RIPK1-NF-pathB yolunun aktivasyonu ile ilişkili olmadığını göstermektedir (11,58). İmmünojenik hücre ölümü enfeksiyöz hastalıklar sırasında da gözlenen bir hücre ölümü çeşididir (50). Bunun yanında bazı sitotoksik antineoplastik ajanlar, kanser hücrelerini strese sokarak ve öldürerek immün sistemi uyarır, ve bu yüzeyde kalretikulin (59) gibi DAMP'lerin bulunmasıyla veya ATP (60), annexin A1 (61), HMGB1 (62) ve TFAM (63) gibi DAMP'lerin hücre dışı boşluğa salınması aracılığıyla gerçekleşir (11).

İmmünojenik hücre ölümü, apoptotic ve nekroptotik hücre ölümü şeklinde meydana gelebilir ve bu durum immünolojik yanıtların hücre ölümü modalitesinin kendisine bağlı olmadığı, aksine DAMP'ların salınımı ya da DAMP'lara maruz kalma durumu şeklinde meydana gelen premortem stres tepkilerinin bir sonucu olarak ortaya çıktığını göstermektedir (11,50). Bu nedenle, kalretikulin maruziyeti kısmen bir endoplazmik retikulum stres yanıtına bağlıdır (11,59). Bunun yanı sıra, ATP salınımı otofaji-bağımlı mekanizma ile ilişkilendirilmektedir (11,60). Malignant hücrelerin immünojenik ölümü tümörle ilişkili antijenlerin dendritik hücreler tarafından çapraz sunumu 'cross-presentation' ile meydana gelir ve bu durum daha sonra tümörleri kontrol altında tutmada önemli bir rol oynayan sitotoksik T lenfositlerin indüklenmesine neden olur (11,50).

Güncel literatüre göre DAMP'ların redoks durumuna göre gösterdikleri immün aktivite değişiklik göstermektedir. HMGB1 genellikle çekirdekte lokalize olan bir proteindir fakat hücre ölümü ile ilişkili olarak sitoplazmaya taşınıp hücreden ekstraselüler matrikse salınabilir. Ekstraselüler HMGB1 oksidize olmadığı durumlarda enflamatuar yanıtın başlatılması ve güçlü bir şekilde devam etmesine katkıda bulunabilmektedir (11,64). Bunun yanı sıra, oksidize HMGB1 antijen-sunan hücrelerde immün tolerans yanıtın gelişmesine neden olur (11,65). Ayrıca oksidize halde bulunan HMGB1 antikanser immüniteyi kısıtlamak için CD274 gibi immün kontrol noktası molekülünün (PD-L1 olarak da bilinir) ekspresyonunu tetikler (11,66). HMGB1 proteininin proteolitik parçalanması bazı koşullar altında proteinin immünoestimülatör aktivitesini de sınırlamaktadır (11,67). Bu nedenle, HMGB1 proteini hücrede bulunduğu lokalizasyon, konsantrasyonu ve oksidasyon durumuna bağlı olarak hem immünojenik hem de tolerojenik hücre ölümüne yol açan bir DAMP işlevi görebilmektedir (11,68).

4. Terapötik Uygulamalara Göre Hücre Ölümü Çeşitlerinin Sınıflandırılması

Güncel literatürde hücre ölümü terapötik uygulamalar perspektifinden bakılarak hücre ölümüne neden olan "nedensel (Causal)" ya da hücre ölümünün gerçekleşmesine yardım eden "yardımcı (accessory)" komponentler değerlendirilerek yorumlanmaya çalışılmaktadır. Hücre Ölümü Adlandırma Komitesi'nin 2018 yılında yayınladığı derlemede ani (accidental) ve regüle edilen (regulated) hücre ölümü sınıflandırılması özetle şu şekilde yapılmaktadır: Hücreler çok zorlu çevresel şartlara maruz kalırlar ise kontrol edilemeyen bir şekilde bir diğer deyişle "ani" bir şekilde hücre ölümü sürecine girebilirler. Bunun yanı sıra; hücreler görece daha hafif endojen ve egzogen çevresel şartlara maruz kalabilirler ve bu şartlar altında adaptif stres yanıtı geliştirip aktif bir ya da birden çok hücre ölümü süre-

cini başlatabilirler. Regule edilen hücre ölümü çeşitleri sırasında genellikle sinyal transdüksiyon modülleri arasında bir etkileşim söz konusudur. Örneğin “ani” (accidental) hücre ölümü farmakolojik ve genetik manüplasyonlar ile durdurulamazken regüle edilen (regulated) hücre ölümü süreçlerine müdahale edilebilmektedir. Bu noktada kimyasal bir ajanla tedavi amaçlı müdahale edilebilen noktalarda bir sonraki bölümde de bahsedilecek olan terapötik uygulamalar klinikte yerini almaktadır (1). Birincil hücre ölümünü takip eden ikinci regüle edilen (regulated) hücre ölümü dalgası sırasında hücreler ortama sitotoksik moleküller (örneğin DAMP’lar) salılabilmektedirler. Bu kısım da farmakolojik olarak hedef olarak belirlenebilecek ve manüple edilebilecek bir nokta olmaktadır. Bir sonraki bölümde kanser tedavisinde hücre ölümünü (özellikle otofajik hücre ölümünü) hedefleyen patentli farmakolojik kimyasal ve ajanlardan ayrıntılı bir şekilde bahsedilecektir.

“REGULATED” HÜCRE ÖLÜMÜ ÇEŞİTLERİ

Apoptoz

Apoptotik hücre ölümü programlanmış bir hücre ölümü çeşididir ve embriyonik dönemde (69,70), postnatal hayatta (71) ve patolojik durumlarda (tümör oluşumu, diyabet, viral enfeksiyonlar, ateroskleroz, organ transplantasyonları gibi) (72) gözlenmektedir. Apoptotik hücre ölümü sırasında meydana gelen morfolojik ve biyokimyasal olaylara bu bölümde daha önceki kısımlarda değinilmiştir. Buna ek olarak, bu kısımda apoptotik hücre ölümü sırasında görev alan moleküllerden kısaca bahsedilecektir.

Apoptotik hücre ölümünün düzenlenmesinde evrimsel olarak korunmuş protein aileleri (Bcl-2/Bax ailesi, ve proteolitik enzimler olan kaspazlar) görev almaktadır (73). Kaspaz enzimleri apoptotik hücre ölümünde merkezi rolleri olan enzimlerdir ve substratları yine kaspaz enzimleridir (74). Kaspaz enzimleri başlatıcı kaspazlar (Kaspaz 2, 8, 9, 10), efektör

kaspazlar (Kaspaz 3, 6, 7) ve enflamatuar kaspazlar (Kaspaz 1, 4, 5, 11, 12, 13, 14) olmak üzere üç grupta toplanabilir. Kaspaz enzimleri DNA tamiri ve replikasyon için gerekli enzimleri inaktive ederler ve hücre iskeleti proteinlerini keserler. Bcl-2 proteinleri ise pro-apoptotik proteins (apoptojenler; Bad, Bax, Bid, BclXs, Bak, Bim, Puma ve Noxa) ve anti-apoptotik proteinler (Bcl-2, Bcl-xL ve Mcl-1) olarak ikiye ayrılmaktadır (74). Proapoptotik proteinler sitozelde yer alırken anti-apoptotik proteinler ise mitokondrilerin dış membranında, ER’da ve çekirdek zarında lokalize olurlar (75–77). P53 hücrede DNA hasarı meydana geldiği zaman hücre bölünme sürecinin durdurulup DNA tamiri için fırsat tanınmasına neden olan transkripsiyon faktörüdür (78). Hasar tamir edilemeyecek durumda oldu-

ğu koşullarda anti-apoptotik proteinleri (Bcl-2, Bcl-xL) baskılar ve pro-apoptotik proteinlerin ekspresyonunu (Bax, Apaf-1 ve Fas) tetikler ve böylece de apoptozun indüklenmesini sağlar (78). Fas (APO-1 ve CD95) ise TNF reseptör ailesinin bir üyesidir ve Fas reseptörünün aktivasyonu sonucunda pro-kaspazlar aktive olup apoptotik hücre ölümü başlatılır (77, 79,80).

1. Ekstrinsik Apoptosis

Ektrinsik apoptoz ekstraselüler mikroçevrenin ortamının bozulması ile başlayan, plazma zarı reseptörleri tarafından algılanan, CASP8 enzimi tarafından sinyal iletim mekanizması tetiklenen ve özellikle CASP3 enzimi olmak üzere efektör kaspaz enzimleri tarafından sonlandırılan regülated hücre ölüm çeşididir (1,42). Ektrinsik apoptoz iki çeşit membran reseptörünün uyarılması ile tetiklenir: (1) death (ölüm) reseptörleri ve (2) dependence (bağımlı) reseptörler. Ektrinsik apoptoz death (ölüm) reseptör ligandlarının (TNF, TNFS10 ve FASLG) ilgili death (ölüm) reseptörlerine (TNFRSF1A, TNFRSF10A ve FAS) bağlanması indüklenirken diğer yandan spesifik reseptör ligandların seviyesinin belirli bir değerin altına inmesi sonucu dependence (bağımlı) reseptörlerin (UNC5B ve DCC) aktivasyonu ile tetiklenir (1,42). CASP8 ve CASP10 enzimleri death (ölüm) reseptör aracılı ektrinsik apoptozu başlatırken, CASP9 enzimi ise dependence (bağımlı) reseptör ligand aracılı ektrinsik apoptozun gerçekleşmesini sağlar (1,42). Pro-CASP8 ve Pro-CASP10 enzimleri ise Fas-ilişkili ölüm domaini (Fas-associated via death domain-FADD) ile etkileşime girene kadar inaktif fazdayken etkileşim sonrasında aktif hale geçer ve ligandların hücre ölüm reseptörlerine bağlanmasıyla aktive edilir (11).

2. Intrinsik (Mitokondriyal) Apoptoz

Intrinsik Apoptoz DNA hasarı, hipoksi, metabolic stress, hücre dışı veya hücre içi mikro ortamda meydana gelen uyaranlar (radyasyon gibi) sonucunda tetiklenir. Örneğin; anoikis integrin bağımlı yüzeye tutunmanın kaybedildiği durumlarda gerçekleşen spesifik bir intrinsik apoptoz çeşididir. (1). Tüm bu uyaranların ardından mitokondriyal dışı membrane permeabilizasyonu (Mitochondrial outer membrane permeabilization- MOMP) ve mitokondriyal proteinlerin (CYCS gibi) sitozole salınması ile intrinsik apoptoz başlar (11,42). Sitozolik CYCS apoptozom kompleksinin oluşumu için pro-CASP9'u ortama çağıran APAF1 ile etkileşime geçer. MOMP pro-apoptotik ve anti-apoptotik protein BCL2 protein ailesi tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir. Ektrinsik apoptoz yolağı intrinsik apoptotik yolağını CASP8 tarafından aktive edilmiş olan truncated BID (t-BID) oluşumu aracılığıyla tetikleyebilir. tBID ayrıca mitokondriyaya transloke olabilir ve BAX ve BAK1 aktivasyonu aracılığıyla MOMP'a neden olabilir (11).

3. Perforin/Granzim Aracılı Apoptotik Hücre Ölümü

Perforin/granzim aracılı apoptotik hücre ölümü T-hücresi aracılı sitotoksitite ve hücrenin perforin-granzime bağlı olarak hücre ölümüne maruz kalmasını içeren nözel bir hücre ölüm çeşididir. Bu hücre ölümü çeşidinde apoptotic yolak granzim A ve granzim B ile tetiklenir. Bu yolak kaspaz-3 enziminin kesilmesi (cleavage) ve aktive edilmesinin ardından meydana gelen DNA fragmentasyonu, sitoskelet yapılarının ve nükleer proteinlerin degradasyonu, apoptotic cisimciklerin oluşumu ve fagositik hücrelerin reseptörleri için ölen hücre yüzeylerinde spesifik lignadların ekspresyonu ile devam eder. Granzim A yolağı aynı zamanda tek zincirli DNA hasarı aracılığıyla kaspaz-bağımsız hücre ölümünü de tetiklemektedir (81).

Ekstrinsik, intrinsik ve sitotoksik T hücrelerinde Perforin/Granzim Yolağı ile tetiklenen apoptotik hücre ölümü süreçlerinde CASP3, CASP6, and CASP7 apoptotik hücre ölümü sırasında görev alan ortak efektör kaspazlardır. Bu kaspazların aktive edilmesi ile endonükleaz aktivasyonu meydana gelir ve kromozomal DNA, nükleer ve sitoskeleton proteinlerinin degradasyonu gözlenir. Ardından kromatin ve sitoplazmik kondensasyon ve nükleer fragmentasyonu takiben apoptotic cisimciklerin (apoptotic bodies) oluşumu meydana gelir (11,42).

Nekroptotik Hücre Ölümü

Nekroptotik hücre ölümü kaspaz bağımsız bir hücre ölüm çeşididir ve MLKL, RIPK3 ve RIPK1 kinaz aktivitesine bağlı olarak ekstraselüler ve intraselüler homeostazın bozulması sonucunda tetiklenir. Tip 3 ya da ani gelişen (accidental) hücre ölümü olarak da bilinen nekrotik hücre ölümü geri dönüşümsüz olarak, ani gelişen ve beklenmeyen aşırı bir indükleyici aracılığıyla herhangi bir kontrol mekanizması ile önlenemeyen bir hücre ölümü çeşididir. Diğer yandan nekroptotik hücre ölümünün apoptotik hücre ölümü gibi regüle edilebilen ve kontrol mekanizmaları ile müdahale edilebilen bir hücre ölümü çeşidi olarak literatürde gösterilmiştir (1,11,82– 87).

Ferroptotik Hücre Ölümü

Ferroptoz, ROS üretimine ve demir kullanılabilirliğine dayanan hücre içi mikro-ortamın spesifik bozulmaları ile başlatılan regüle edilen (regulated) ve kaspazlar, nekrozom komponentleri ve otofajik komponentlerden bağımsız bir hücre ölüm çeşididir. Söz konusu hücre ölümü çeşidi nekrotik morfolojide kendini göstermektedir ve immün sistemi uyaran DAMP'ların salınımı ile ilişkilendirilmektedir. Ferroptotik hücre ölümü glutatyon (GSH) bağımlı enzim glutatyon peroksidad 4 (GPX4) kontrolünde olan intraselüler mikroçevrede meydana gelen bozukluklar sonucunda tetiklenmektedir ve demir şelatörleri ve lipofilik antioksidantlar ile inhibe edilebilmektedir (1,88–92).

Piroptoz (Pyroptosis)

Piroptotik hücre ölümü özel morfolojik özellikler taşıyan (apoptotik hücre ölümünden farklı bir şekilde kromatinin kondansasyonu gibi) ve doğal (innate) immünitede meydana gelen hücre dışı veya hücre içi homeostazın bozuklukları ile ilişkili şekilde ortaya çıkan regüle edilen (regulated) bir hücre ölümü çeşididir. Gasdermin protein ailesinin üyeleri tarafından plazma membranında meydana gelen porların oluşumuna bağlı gerçekleşmektedir. İlk olarak, piroptoz kanonik CASP1 aktivasyonuna giden makrofajların ya da monositlerin hücre ölümü olarak düşünülmüş olsa da güncel bulgular piroptozun kaspaz enzimlerinin aktivasyonu (CAPS3) ile de tetiklendiğini göstermektedir. Piroptotik hücre ölümü monositler dışındaki diğer hücrelerde de gözlenmektedir ve ölümcül septik şok durumunda da tetiklenen bir hücre ölümü çeşididir. Her zaman olmasa da zaman zaman inflamatuvar kaspaz aktivasyonu sonucunda da meydana gelebilmektedir (1,93–99).

Partanatoz (Parthanatos)

Kaspaz bağımsız bir hücre ölümü çeşididir ve PARP1 (poli(ADP-riboz) polimeraz 1) hiperaktivitesi ile ve AIF-bağımlı ve MIF-bağımlı DNA degradasyonu sonucu meydana gelen biyoenerjetik katastrof sonucu meydana gelmektedir. Sadece DNA hasarı sonucu değil aynı zamanda oksidatif stres, hipoksi, hipoglisemi ve inflamasyon ile de tetiklendiği gözlenmiştir (100).

Entotik Hücre Ölümü

Aktomisin bağımlı hücre-hücre internalizasyonu (entosis) ve lizizomlar ile bu hücre-hücre komplekslerinin birleşmesi sonucunda meydana gelen regulated hücre ölümü çeşididir. Entozis, sağlıklı ve kötü huylu memeli dokularında meydana gelen, aynı hücrelerin fagozitozdan farklı bir mekanizma ile fagositik olmayan hücreler tarafından hücre içine alınması ve sindirilmesi anlamına gelen bir hücre ölümü çeşididir. Entotik hücre ölümü epitel hücrelerin ekstraselüle matriksten ayrılması ve integrin sinyalinin kaybedilmesi ile tetiklenmektedir fakat buna alternatif süreçlerin (hücre-hücre kontağı sırasında miyozin ekspresyonunun bozulması (101) gibi) varlığından da bahsedilmektedir (1,102–105).

NETotik Hücre Ölümü

Netotik hücre ölümü reaktif oksijen ürünleri (ROS) bağımlı nötrofil hücrelerine özgü bir hücre ölümü çeşidi olarak bilinmektedir. Bu hücre ölümü çeşidinde kromatin ve histon içeren fiberlerin granular ve sitoplazmik proteinlerin nötrofil ekstraselüler tuzaklara (Neutrophil extracellular traps-NETs) bağlanması söz konusudur ve NETs oluşumu birçok mikrobiyal ajan varlığında oluşabildiği gibi Toll-like reseptörler gibi spesifik reseptörlerin aktive edilmesi ile de meydana gelebilmektedir (1,106,107).

Lizozom-bağımlı Hücre Ölümü

Lizozom bağımlı hücre ölümü regüle edilen (regulated) hücre ölümü çeşididir ve hücre içi homeostazın bozulması ve lizozomal zarların permeabilizasyonunun bozulması ile tetiklenir. Bu hücre çeşidi bir çok patofizyolojik durumda (örneğin inflamasyon, doku yeniden şekillenmesi (örneğin laktasyondan sonra meme bezi gelişimi), yaşlanma, nörodejenerasyon, kardiyovasküler bozukluklar ve hücre içi patojen tepkisi) gözlenmektedir (1,108,109).

Alkaliptoz (Alkaliptosis)

Kaspaz bağımsız ve nekrotik hücre ölümü benzeri bir hücre ölümü çeşididir ve imünojenik özellik gösterir. Alkaliptoz pH-bağımlı bir hücre ölümü çeşididir ve intraselüler alkalinizasyon süreci ile tetiklenmektedir. Spesifik olarak kanser hücrelerinde (örneğin pankreatik kanser hücresi olan PDAC hücreleri) JTC801 tarafından tetiklenmektedir. Kanser dokularında CA9'un ekspresyonunu artış göstermektedir ve JTC801 ile CA9 ekspresyonunun azaltıldığı gösterilmiştir. JTC801 analjezik etkileri olan opioid reseptörüne bağlanan bir ajan olarak bilinmektedir ve elde edilen bilgilere göre pankreatik kanserlerde tedavi yaklaşımlarında kullanılabilecek bir ajan olabilmektedir (110).

Okseiptoz (Oxeiptosis)

Kaspaz bağımsız ve apoptoz benzeri bir hücre ölümü çeşididir. Okseiptoz (Oxeiptosis), KEAP1-PGAM5-AIFM1 yolağının aktivasyonu ile tetiklenen oksijen radikali bağımlı ve literatüre yeni kazandırılan bir hücre ölümü çeşididir. Okseiptoz (Oxeiptosis) tolerojenik hücre ölümü çeşididir ve 2018 yılında Andreas Pichlmair'in ekibi tarafından farelerin ozona verdiği yanıtların incelenmesi ve fibroblast ve epitel hücrelerinin hidrojen peroksit (H₂O₂) verdiği tepkinin hücresel boyutta incelenmesi ile tanımlanmış yeni bir hücre ölümü sürecidir (11,111).

ÖLÜM İLE SONUÇLANMAYAN VE REGÜLE EDİLMEMEYEN “HÜCRE ÖLÜMÜ” SÜREÇLERİ

Hücrel senesens ve mitotik katastrof kavramları hatalı bir şekilde “regüle edilen hücre ölümü” çeşidi olarak literatürde değerlendirilmelidir. Bu kısımda bu süreçlerin her zaman hücrenin “ölümü” ile sonuçlanmayan süreçler olduğu vurgulanmaktadır. Regüle edilen (regulated) hücre ölümü süreçlerine benzer morfolojik ve biyokimyasal özellikler göstermekle beraber sözkonusu olaylar sonucunda hücrelerin ölümü gerçekleşmeyebilmektedir (1).

1. Hücresel Senesens (Cellular senescence)

Senesens-ilişkili sekretuar fenotip (SASP- senescence-associated secretory phenotype) de dahil olmak üzere, hücrelerin geridönüşümsüz bir şekilde spesifik olarak morfolojik ve biyokimyasal bazı özelliklerinde kayıp meydana gelmesi sonucunda gelişir ve regüle edilen (regulated) hücre ölümü çeşidi değildir (112,113).

2. Mitotik Katastrof (Mitotic catastrophe)

Mitotik katastrof, fazla miktarda meydana gelen DNA hasarı, mitotik süreçle ilgili problemler ve mitotik kontrol noktalarının yetersizliği nedeniyle mitozu tamamlamayan hücrelerin çoğalmasını ve hayatta kalmasını engelleyen onkösüpresif bir mekanizmadır (114,115). Regüle edilen (regulated) hücre ölümü çeşidi değildir. Endojen (DNA replikasyon mekanizması sırasında meydana gelen stres ve DNA replikasyonunda veya kromozom ayrılması sırasında rol alan faktörlerin düzensiz aktivitesi) ve egzojen (ksenobiyotikler) tetikleyiciler tarafından indüklenilen bir süreçtir (116,117). Örneğin; mitotik katastrof süreci sonucunda regüle edilen bir hücre çeşidi olan “mitotik ölüm” diye adlandırılan bir süreçle hücreler ölebilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hücre Ölümü, Sınıflandırma, Programlı, Ani gelişen

KAYNAKÇA

1. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, et al. Molecular mechanisms of cell death: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ.* 2018 Mar;25(3):486-541. doi: 10.1038/s41418-017-0012-4.
2. Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, et al. Classification of Cell Death 2009. *Cell Death Differ.* 2009 Jan;16(1):3-11. doi: 10.1038/cdd.2008.150.
3. Galluzzi L, Bravo-San Pedro JM, Vitale I, et al. Essential versus accessory aspects of cell death: Recommendations of the NCCD 2015. *Cell Death Differ.* 2015 Jan;22(1):58-73. doi: 10.1038/cdd.2014.137.
4. Galluzzi L, Vitale I, Abrams JM, et al. Molecular definitions of cell death subroutines: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. *Cell Death Differ.* 2012 Jan;19(1):107-20. doi: 10.1038/cdd.2011.96.
5. Kroemer G, El-Deiry WS, Golstein P, et al. Classification of cell death: Recommendations of the nomenclature committee on cell death. *Cell Death Differ.* 2005 Nov;12 Suppl 2:1463-7.
6. Kepp O, Galluzzi L, Lipinski M, et al. Cell death assays for drug discovery. *Nat Rev Drug Discov.* 2011 Mar;10(3):221-37. doi: 10.1038/nrd3373
7. Mazzeo P. A unifying concept: The history of cell theory. *Nat Cell Biol.* 1999 May;1(1):E13-5.
8. Vaux DL. Apoptosis timeline. *Cell Death Differ.* 2002 Apr;9(4):349-54.
9. Vogt C. Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der Geburtshelkroete (Alytes obstetricians). Solothurn: Jent und Gassman, 1842, p. 130.
10. Lockshin RA, Williams CM. Programmed cell death-II. Endocrine potentiation of the breakdown of the intersegmental muscles of silkworms. *J Insect Physiol.* Volume 10, Issue 4, August 1964, Pages 643-649.

11. Tang D, Kang R, Berghe T Vanden, et al. The molecular machinery of regulated cell death. *Cell Res.* 2019 May;29(5):347-364. doi: 10.1038/s41422-019-0164-5.
12. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer.* 1972 Aug;26(4):239-57.
13. Schweichel J .U, Merker H .J. The morphology of various types of cell death in prenatal tissues. *Teratology.* 1973 Jun;7(3):253-66.
14. Clarke PGH. Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanisms. *Anat Embryol (Berl).* 1990;181(3):195-213.
15. Ohsumi Y. Historical landmarks of autophagy research. *Cell Res.* 2014 Jan;24(1):9-23. doi: 10.1038/cr.2013.169.
16. Takeshige K, Baba M, Tsuboi S, et al. Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction. *J Cell Biol.* 1992 Oct;119(2):301-11.
17. Baba M, Takeshige K, Baba N, et al. Ultrastructural analysis of the autophagic process in yeast: Detection of autophagosomes and their characterization. *J Cell Biol.* 1994 Mar;124(6):903-13.
18. Tanida I, Ueno T, Kominami E. LC3 conjugation system in mammalian autophagy. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004 Dec;36(12):2503- 18.
19. Poon IKH, Lucas CD, Rossi AG, et al. Apoptotic cell clearance: Basic biology and therapeutic potential. *Nat Rev Immunol.* 2014 Mar;14(3):166-80. doi: 10.1038/nri3607
20. Hochreiter-Hufford A, Ravichandran KS. Clearing the dead: Apoptotic cell sensing, recognition, engulfment, and digestion. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013 Jan 1;5(1):a008748. doi: 10.1101/cshperspect.a008748.
21. Underhill DM, Goodridge HS. Information processing during phagocytosis. *Nat Rev Immunol.* 2012 Jun 15;12(7):492-502. doi: 10.1038/nri3244.
22. Overholtzer M, Mailloux AA, Mouneimne G, et al. A Nonapoptotic Cell Death Process, Entosis, that Occurs by Cell-in-Cell Invasion. *Cell.* 2007 Nov 30;131(5):966-79.
23. Klionsky DJ, Abdalla FC, Abeliovich H, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy. *Autophagy.* 2012 Apr;8(4):445-544.
24. Galluzzi L, Aaronson SA, Abrams J, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes. *Cell Death Differ.* 2009 Aug;16(8):1093-107. doi: 10.1038/cdd.2009.44.
25. Vanden Berghe T, Grootjans S, Goossens V, et al. Determination of apoptotic and necrotic cell death in vitro and in vivo. *Methods.* 2013 Jun 1;61(2):117-29. doi: 10.1016/j.jymeth.2013.02.011.
26. Galluzzi L, Maiuri MC, Vitale I, et al. Cell death modalities: Classification and pathophysiological implications. *Cell Death Differ.* 2007 Jul;14(7):1237-43.
27. Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis: An overview of cell death. *Am J Pathol.* 1995 Jan;146(1):3-15.
28. Kroemer G, Levine B. Autophagic cell death: The story of a misnomer. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008 Dec;9(12):1004-10. doi: 10.1038/nrm2529.
29. Denton D, Nicolson S, Kumar S. Cell death by autophagy: Facts and apparent artefacts. *Cell Death Differ.* 2012 Jan;19(1):87-95. doi: 10.1038/cdd.2011.
30. Jänicke RU, Sprengart ML, Wati MR, et al. Caspase-3 is required for DNA fragmentation and morphological changes associated with apoptosis. *J Biol Chem.* 1998 Apr 17;273(16):9357-60.
31. Coleman ML, Sahai EA, Yeo M, et al. Membrane blebbing during apoptosis results from caspase-mediated activation of ROCK I. *Nat Cell Biol.* 2001 Apr;3(4):339-45.
32. Jouan-Lanhouet S, Arshad MI, Piquet-Pellorce C, et al. TRAIL induces necroptosis involving RIPK1/RIPK3-dependent PARP-1 activation. *Cell Death Differ.* 2012 Dec;19(12):2003-14. doi: 10.1038/cdd.2012.90.
33. Banik S, Akter M, Corpus Bondad SE, et al. Carvacrol inhibits cadmium toxicity through combating against caspase dependent/independent apoptosis in PC12 cells. *Food Chem Toxicol.* 2019 Dec;134:110835. doi: 10.1016/j.fct.2019.110835.
34. Belmokhtar CA, Hillion J, Ségal-Bendirdjian E. Staurosporine induces apoptosis through both caspase-dependent and caspase- independent mechanisms. *Oncogene.* 2001 Jun 7;20(26):3354-62.

35. Casares N, Pequignot MO, Tesniere A, et al. Caspase-dependent immunogenicity of doxorubicin-induced tumor cell death. *J Exp Med*. 2005 Dec 19;202(12):1691-701.
36. Asano K, Miwa M, Miwa K, et al. Masking of phosphatidylserine inhibits apoptotic cell engulfment and induces autoantibody production in mice. *J Exp Med*. 2004 Aug 16;200(4):459-67.
37. Lauber K, Blumenthal SG, Waibel M, et al. Clearance of apoptotic cells: Getting rid of the corpses. *Mol Cell*. 2004 May 7;14(3):277-87.
38. Fadok VA, Bratton DL, Henson PM. Phagocyte receptors for apoptotic cells: Recognition, uptake, and consequences. *J Clin Invest*. 2001 Oct;108(7):957-62.
39. Hugues S, Mougneau E, Ferlin W, et al. Tolerance to islet antigens and prevention from diabetes induced by limited apoptosis of pancreatic β cells. *Immunity*. 2002 Feb;16(2):169-81.
40. Green DR, Oguin TH, Martinez J. The clearance of dying cells: Table for two. *Cell Death Differ*. 2016 Jun;23(6):915-26. doi: 10.1038/cdd.2015.172.
41. Fadok VA, Savill JS, Haslett C, et al. Different populations of macrophages use either the vitronectin receptor or the phosphatidylserine receptor to recognize and remove apoptotic cells. *J Immunol*. 1992 Dec 15;149(12):4029-35.
42. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol*. 2007 Jun;35(4):495-516.
43. Gardai SJ, McPhillips KA, Frasch SC, et al. Cell-surface calreticulin initiates clearance of viable or apoptotic cells through trans- activation of LRP on the phagocyte. *Cell*. 2005 Oct 21;123(2):321-34.
44. Yatim N, Cullen S, Albert ML. Dying cells actively regulate adaptive immune responses. *Nat Rev Immunol*. 2017 Apr;17(4):262-275. doi: 10.1038/nri.2017.9.
45. Green DR, Ferguson T, Zitvogel L, Kroemer G. Immunogenic and tolerogenic cell death. *Nat Rev Immunol*. 2009 May;9(5):353-63. doi: 10.1038/nri2545
46. Nowak AK, Lake RA, Marzo AL, et al. Induction of Tumor Cell Apoptosis In Vivo Increases Tumor Antigen Cross-Presentation, Cross- Priming Rather than Cross-Tolerizing Host Tumor-Specific CD8 T Cells. *J Immunol*. 2003 May 15;170(10):4905-13
47. Lugade AA, Moran JP, Gerber SA, et al. Local Radiation Therapy of B16 Melanoma Tumors Increases the Generation of Tumor Antigen- Specific Effector Cells That Traffic to the Tumor. *J Immunol*. 2005 Jun 15;174(12):7516-23.
48. Petrovski G, Ayna G, Majai G, et al. Phagocytosis of cells dying through autophagy induces inflammasome activation and IL-1 β release in human macrophages. *Autophagy*. 2011;7(3):321-30.
49. Ayna G, Krysko D V., Kaczmarek A, ATP release from dying autophagic cells and their phagocytosis are crucial for inflammasome activation in macrophages *PLoS One*. 2012;7(6):e40069. doi: 10.1371/journal.pone.0040069.
50. Galluzzi L, Buqué A, Kepp O, et al. Immunogenic cell death in cancer and infectious disease. *Nat Rev Immunol*. 2017 Feb;17(2):97-111. doi: 10.1038/nri.2016.107.
51. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science*. 1995 Mar 10;267(5203):1456-62.
52. Zitvogel L, Casares N, Pequignot MO, et al. Immune response against dying tumor cells. *Adv Immunol*. 2004;84:131-79.
53. Tang D, Kang R, Coyne CB, et al. PAMPs and DAMPs: Signal 0s that spur autophagy and immunity. *Immunol Rev*. 2012 Sep;249(1):158- 75. doi: 10.1111/j.1600-065X.2012.01146.x.
54. Hou W, Zhang Q, Yan Z, et al. Strange attractors: DAMPs and autophagy link tumor cell death and immunity. *Cell Death Dis*. 2013 Dec 12;4:e966. doi: 10.1038/cddis.2013.493.
55. Yatim N, Jusforgues-Saklani H, Orozco S, et al. RIPK1 and NF- κ B signaling in dying cells determines cross-priming of CD8+ T cells. *Science*. 2015 Oct 16;350(6258):328-34. doi: 10.1126/science.aad0395.
56. Ahn J, Xia T, Rabasa Capote A, et al. Extrinsic Phagocyte- Dependent STING Signaling Dictates the Immunogenicity of Dying Cells. *Cancer Cell*. 2018 May 14;33(5):862-873.e5. doi: 10.1016/j.ccell.2018.03.027.

57. Ma Y, Aymeric L, Locher C, et al. Contribution of IL-17- producing gamma delta T cells to the efficacy of anticancer chemotherapy. *J Exp Med.* 2011 Mar 14;208(3):491-503. doi: 10.1084/jem.20100269.
58. Ren J, Jia X, Zhao Y, et al. The RIP3-RIP1-NF- κ B signaling axis is dispensable for necroptotic cells to elicit cross-priming of CD8+ T cells. *Cell Mol Immunol.* 2017 Jul;14(7):639-642. doi: 10.1038/cmi.2017.31.
59. Obeid M, Tesniere A, Ghiringhelli F, et al. Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death. *Nat Med.* 2007 Jan;13(1):54-61.
60. Michaud M, Martins I, Sukkurwala AQ, et al. Autophagy- dependent anticancer immune responses induced by chemotherapeutic agents in mice. *Science.* 2011 Dec 16;334(6062):1573-7. doi: 10.1126/science.1208347.
61. Vacchelli E, Ma Y, Baracco EE, et al. Chemotherapy-induced antitumor immunity requires formyl peptide receptor 1. *Science.* 2015 Nov 20;350(6263):972-8. doi: 10.1126/science.aad0779.
62. Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, et al. Toll-like receptor 4- dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy. *Nat Med.* 2007 Sep;13(9):1050-9.
63. Yang M, Li C, Zhu S, et al. TFAM is a novel mediator of immunogenic cancer cell death. *Onco-immunology.* 2018 Feb 15;7(6):e1431086. doi: 10.1080/2162402X.2018.1431086.
64. Kang R, Chen R, Zhang Q et al. HMGB1 in health and disease. *Mol Aspects Med.* 2014 Dec;40:1-116. Doi: 10.1016/j.mam.2014.05.001.
65. Kazama H, Ricci JE, Herndon JM, et al. Induction of Immunological Tolerance by Apoptotic Cells Requires Caspase- Dependent Oxidation of High-Mobility Group Box-1 Protein. *Immunity.* 2008 Jul 18;29(1):21-32. doi: 10.1016/j.immuni.2008.05.013.
66. Li C, Zhang Y, Cheng X, et al. PINK1 and PARK2 Suppress Pancreatic Tumorigenesis through Control of Mitochondrial Iron- Mediated Immunometabolism. *Dev Cell.* 2018 Aug 20;46(4):441-455.e8. doi: 10.1016/j.devcel.2018.07.012.
67. Ito T, Kawahara KI, Okamoto K, et al. Proteolytic cleavage of high mobility group box 1 protein by thrombin-thrombomodulin complexes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008 Oct;28(10):1825-30. doi: 10.1161/ATVBAHA.107.150631.
68. Yu Y, Tang D, Kang R. Oxidative stress-mediated HMGB1 biology. *Front Physiol.* 2015 Apr 7;6:93. doi: 10.3389/fphys.2015.00093.
69. Vaux DL, Korsmeyer SJ. Cell death in development. *Cell.* 1999 Jan 22;96(2):245-54.
70. Franz TA, Kidson SH. Mapping of interdigital apoptosis in the chick and duck hindlimb. *Embryology.* 93(2):85-94. 1997.
71. Marti A, Ritter PM, Jäger R, et al. Mouse mammary gland involution is associated with cytochrome c release and caspase activation. *Mech Dev.* 2001 Jun;104(1-2):89-98.
72. LeBlanc A, Liu H, Goodyer C, et al. Caspase-6 role in apoptosis of human neurons, amyloidogenesis, and Alzheimer's disease. *J Biol Chem.* 1999 Aug 13;274(33):23426-36.
73. Duprez L, Wirawan E, Berghe T Vanden, et al. Major cell death pathways at a glance. *Microbes Infect.* 2009 Nov;11(13):1050-62. doi: 10.1016/j.micinf.2009.08.013.
74. Movassagh M, Foo RSY. Simplified apoptotic cascades. *Heart Fail Rev.* 2008 Jun;13(2):111-9.
75. Adams JM, Cory S. Life-or-death decisions by the Bcl-2 protein family. *Trends Biochem Sci.* 2001 Jan;26(1):61-6.
76. Adrain C, Martin SJ. The mitochondrial apoptosome: A killer unleashed by the cytochrome seas. *Trends Biochem Sci.* 2001 Jun;26(6):390-7.
77. Spierings DC, De Vries EG, Vellenga E, et al. Tissue distribution of the death ligand TRAIL and its receptors. *J Histochem Cytochem.* 2004 Jun;52(6):821-31.
78. Vousden KH, Lu X. Live or let die: The cell's response to p53. *Nat Rev Cancer.* 2002 Aug;2(8):594-604.
79. Curtin JF, Cotter TG. Live and let die: Regulatory mechanisms in Fas-mediated apoptosis. *Cell Signal.* 2003 Nov;15(11):983-92.

80. Coşkun G, Özgür H. Apoptoz ve Nekrozun Moleküler Mekanizması. *Arşiv Kaynak Tarama Derg.* 2011; 20:145.
81. Martinvalet D, Zhu P, Lieberman J. Granzyme A induces caspase- independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis. *Immunity.* 2005 Mar;22(3):355-70.
82. Vercammen D, Vandenabeele P, Beyaert R, et al. Tumour necrosis factor-induced necrosis versus anti-Fas-induced apoptosis in L929 cells. *Cytokine.* 1997 Nov;9(11):801-8.
83. Vercammen D, Brouckaert G, Denecker G, et al. Dual signaling of the Fas receptor: Initiation of both apoptotic and necrotic cell death pathways. *J Exp Med.* 1998 Sep 7;188(5):919-30.
84. Galluzzi L, Kepp O, Krautwald S, et al. Molecular mechanisms of regulated necrosis. *Semin Cell Dev Biol.* 2014 Nov;35:24-32. doi: 10.1016/j.semcdb.2014.02.006.
85. Degterev A, Hitomi J, Germscheid M, et al. Identification of RIP1 kinase as a specific cellular target of necrostatins. *Nat Chem Biol.* 2008 May;4(5):313-21. doi: 10.1038/nchembio.83.
86. Kaczmarek A, Vandenabeele P, Krysko D V. Necroptosis: The Release of Damage-Associated Molecular Patterns and Its Physiological Relevance. *Immunity.* 2013 Feb 21;38(2):209-23. doi: 10.1016/j.immuni.2013.02.003.
87. Weinlich R, Oberst A, Beere HM, et al. Necroptosis in development, inflammation and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2017 Feb;18(2):127-136. doi: 10.1038/nrm.2016.149.
88. Dixon SJ. Ferroptosis: bug or feature? *Immunol Rev.* 2017 May;277(1):150-157. doi: 10.1111/imr.12533.
89. Stockwell BR, Friedmann Angeli JP, Bayir H, et al. Ferroptosis: A Regulated Cell Death Nexus Linking Metabolism, Redox Biology, and Disease. *Cell.* 2017 Oct 5;171(2):273-285. doi: 10.1016/j.cell.2017.09.021.
90. Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell.* 2012 May 25;149(5):1060-72. doi: 10.1016/j.cell.2012.03.042.
91. Linkermann A, Skouta R, Himmerkus N, et al. Synchronized renal tubular cell death involves ferroptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 Nov 25;111(47):16836-41. doi: 10.1073/pnas.1415518111.
92. Kim SE, Zhang L, Ma K, et al. Ultrasmall nanoparticles induce ferroptosis in nutrient-deprived cancer cells and suppress tumour growth. *Nat Nanotechnol.* 2016 Nov;11(11):977-985. doi: 10.1038/nnano.2016.164.
93. Jorgensen I, Miao EA. Pyroptotic cell death defends against intracellular pathogens. *Immunol Rev.* 2015 May;265(1):130-42. doi: 10.1111/imr.12287.
94. Bergsbaken T, Fink SL, Cookson BT. Pyroptosis: Host cell death and inflammation. *Nat Rev Microbiol.* 2009 Feb;7(2):99-109. doi: 10.1038/nrmicro2070.
95. Zychlinsky A, Prevost MC, Sansonetti PJ. *Shigella flexneri* induces apoptosis in infected macrophages. *Nature.* 1992 Jul 9;358(6382):167-9.
96. Shi J, Gao W, Shao F. Pyroptosis: Gasdermin-Mediated Programmed Necrotic Cell Death. *Trends Biochem Sci.* 2017 Apr;42(4):245-254. doi: 10.1016/j.tibs.2016.10.004.
97. Shi J, Zhao Y, Wang Y, Gao W, Ding J, et al. Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS. *Nature.* 2014 Oct 9;514(7521):187-92. doi: 10.1038/nature13683.
98. Aziz M, Jacob A, Wang P. Revisiting caspases in sepsis. *Cell Death Dis.* 2014 Nov 20;5:e1526. doi: 10.1038/cddis.2014.488.
99. Vanden Berghe T, Demon D, Bogaert P, et al. Simultaneous targeting of IL-1 and IL-18 is required for protection against inflammatory and septic shock. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014 Feb 1;189(3):282-91. doi: 10.1164/rccm.201308-1535OC.
100. Fatokun AA, Dawson VL, Dawson TM. Parthanatos: Mitochondrial-linked mechanisms and therapeutic opportunities. *British Br J Pharmacol.* 2014 Apr;171(8):2000-16. doi: 10.1111/bph.12416.
101. Wan Q, Liu J, Zheng Z, et al. Regulation of myosin activation during cell-cell contact formation by Par3-Lgl antagonism: Entosis without matrix detachment. *Mol Biol Cell.* 2012 Jun;23(11):2076-91. doi: 10.1091/mbc.E11-11-0940.

102. Durgan J, Tseng YY, Hamann JC, et al. Mitosis can drive cell cannibalism through entosis. *Elife*. 2017 Jul 11;6. pii: e27134. doi: 10.7554/eLife.27134.
103. Krishna S, Overholtzer M. Mechanisms and consequences of entosis. *Cell Mol Life Sci*. 2016 Jun;73(11-12):2379-86. doi: 10.1007/s00018-016-2207-0.
104. Florey O, Kim S, Overholtzer M. Entosis: Cell-in-Cell Formation that Kills Through Entotic Cell Death. *Curr Mol Med*. 2015;15(9):861-6.
105. Pérez E, Bergmann A. Intercellular cannibalism fuels tumor growth. *Cell Death Differ*. 2017 May;24(5):759-760. doi: 10.1038/cdd.2017.39.
106. Brinkmann V, Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: Is immunity the second function of chromatin? *J Cell Biol*. 2012 Sep 3;198(5):773-83. doi: 10.1083/jcb.201203170.
107. Remijsen Q, Kuijpers TW, Wirawan E, et al. Dying for a cause: NETosis, mechanisms behind an antimicrobial cell death modality. *Cell Death Differ*. 2011 Apr;18(4):581-8. doi: 10.1038/cdd.2011.1.
108. Aits S, Jäättelä M. Lysosomal cell death at a glance. *J Cell Sci*. 2013 May 1;126(Pt 9):1905-12. doi: 10.1242/jcs.091181.
109. Serrano-Puebla A, Boya P. Lysosomal membrane permeabilization in cell death: new evidence and implications for health and disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2016 May;1371(1):30-44. doi: 10.1111/nyas.12966.
110. Song X, Zhu S, Xie Y, et al. JTC801 Induces pH-dependent Death Specifically in Cancer Cells and Slows Growth of Tumors in Mice. *Gastroenterology*. 2018 Apr;154(5):1480-1493. Doi: 10.1053/j.gastro.2017.12.004.
111. Holze C, Michaudel C, MacKowiak C, et al. Oxeiptosis, a ROS- induced caspase-independent apoptosis-like cell-death pathway article. *Nat Immunol*. 2018 Feb;19(2):130-140. doi: 10.1038/s41590-017-0013-y.
112. Campisi J. Aging, Cellular Senescence, and Cancer. *Annu Rev Physiol*. 2013;75:685-705. doi: 10.1146/annurev-physiol-030212-183653.
113. Sharpless NE, Sherr CJ. Forging a signature of in vivo senescence. *Nat Rev Cancer*. 2015 Jul;15(7):397-408. doi: 10.1038/nrc3960.
114. Castedo M, Perfettini JL, Roumier T, et al. Cell death by mitotic catastrophe: A molecular definition. *Oncogene*. 2004 Apr 12;23(16):2825- 37.
115. Vitale I, Galluzzi L, Castedo M, et al. Mitotic catastrophe: a mechanism for avoiding genomic instability. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2011 Jun;12(6):385-92. doi: 10.1038/nrm3115.
116. Dominguez-Brauer C, Thu KL, Mason JM, et al. Targeting Mitosis in Cancer: Emerging Strategies. *Mol Cell*. 2015 Nov 19;60(4):524-36. doi: 10.1016/j.molcel.2015.11.006.
117. Neelsen KJ, Zanini IMY, Herrador R, et al. Oncogenes induce genotoxic stress by mitotic processing of unusual replication intermediates. *J Cell Biol*. 2013 Mar 18;200(6):699-708. doi: 10.1083/jcb.201212058.