



Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/yyufbed>



Derleme

BCL-2 Protein Ailesi ve Kanser

Derya OKUYAN

Bandırma Onyedli Eylül Üniversitesi, Susurluk Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, 10600, Balıkesir,
Türkiye

Derya OKUYAN, ORCID No: 0000-0001-6758-8556

Sorumlu yazar e-posta: dokuyan@bandirma.edu.tr

Makale Bilgileri

Geliş: 26.12.2022
Kabul: 19.04.2023
Online Aralık 2023

DOI: [10.53433/yyufbed.1220984](https://doi.org/10.53433/yyufbed.1220984)

Anahtar Kelimeler

Apoptoz,
BCL-2,
Kanser,
Programlanmış hücre ölümü

Öz: Bu derlemenin odak noktası, BCL-2 ailesi proteinlerinin apoptozu düzenlemedeki rolüdür. Apoptoz, gelişimsel süreçte ve stres yanıtı olarak ortaya çıkan çok önemli bir biyolojik süreçtir. Bozulmuş apoptotik mekanizma kanser gelişiminde merkezi bir rol oynar ve ayrıca bilinen sitotoksik tedavilerin etkinliğini azaltır. B-hücreli lenfoma 2 (BCL-2) protein ailesinin üyeleri, proveya anti-apoptotik aktivitelere sahiptir ve son on yılda apoptozu, tümör oluşumunu ve antikanser tedavisine hücrel yanıtın düzenlemedeki önemleri açısından yoğun bir şekilde incelenmiştir. Apoptoz kaynaklı hücre ölümünün indüklediği inflamatuvar yanıtlardan dolayı günümüzde apoptozu hedef alan antikanser ilaçların geliştirilmesi giderek daha fazla dikkat çekici hale gelmiştir. BCL-2 ailesi proteinlerinin apoptoz regülasyon mekanizması araştırılmış ve bütün bulgular, BCL-2 ailesi proteinlerinin kanser tedavisindeki potansiyelinin ne kadar önemli olduğunu vurgulamaktadır.

BCL-2 Protein Family and Cancer

Article Info

Recieved: 26.12.2022
Accepted: 19.04.2023
Online December 2023

DOI: [10.53433/yyufbed.1220984](https://doi.org/10.53433/yyufbed.1220984)

Keywords

Apoptosis,
BCL-2,
Cancer,
Programmed cell death

Abstract: The main goal of this review is to highlight the most recent findings about the regulation of apoptosis by BCL-2 family members. Apoptosis, a crucial biological mechanism, is a reaction to cellular stress or developmental stimuli. Impaired apoptosis is a major contributor to cancer formation and lowers the effectiveness of conventional cytotoxic therapy. Over the last ten years, researchers have heavily focused on understanding the pro- or anti-apoptotic activities of members of the B-cell lymphoma 2 (BCL-2) protein family and its significance in controlling carcinogenesis, apoptosis, and cellular reactions to anticancer treatment. The development of anticancer medications targeting apoptosis is currently receiving increasing attention because the inflammatory response brought on by apoptosis-induced cell death is extremely little. Additionally, it was investigated how BCL-2 family proteins control apoptosis. The promise of BCL-2 family proteins in cancer treatment is suggested by all of the research.

1. Giriş

Apoptoz, embriyogenez ve yetişkin doku homeostazı gibi fizyolojik süreçlerde anahtar rolleri üstlenen bunun yanı sıra tümör baskılayıcı mekanizmada da aktif olarak rol oynayan evrimsel olarak korunmuş programlı hücre ölüm mekanizmasıdır (Green, 2018). Apoptoz, DNA hasarları, sitotoksik ilaçlar ya da radyoterapi gibi birçok uyarana aktif olmaktadır. Apoptozu regüle eden 2 yolak vardır. Bunlardan ilki intrinsik yolaktır. Bu yolak BCL-2 tarafından düzenlenmektedir. Diğer yolak ise

mitokondriyal ve ekstrinsik yolak olarak bilinen ölüm reseptörünün neden olduğu yoldur (Kaloni ve ark., 2022). B hücreli lenfoma 2 (BCL-2) protein ailesinin üyeleri, pro- ve anti-apoptotik aktivitelere sahip anahtar düzenleyici proteinlerdir. BCL-2 protein ailesi üyeleri sağlıklı hücrelerde ince ve hassas bir dengede tutulur. Bu proteinler hücrelerin geri dönüşümsüz bir şekilde hücre ölümüne yönelmesini sağlarlarken tam tersi durum olarak hücrelerin apoptozdan kalıcı olarak kaçmasına ve tümör oluşumunu regüle edebilirler (Carneiro & El-Deiry, 2020). BCL-2 protein ailesi üyeleri, işlevlerine ve amino asit dizisi benzerliğine göre üç alt gruba ayrılırlar; 1) Proapoptotik BH3 proteinlerini (BIM, BID, PUMA, BMF, NOXA, BIK, BAD, HRK), 2) pro-hayatta kalma proteinlerini (BCL-2, BCLXL, BCL-W, MCL-1, A1/BFL-1) ve 3) apoptoz efektörleri (BAX, BAK, BOK) (Youle & Strasser, 2008; Czabotar ve ark., 2014).

2. BCL-2 ailesinin yapısal domainleri

BCL-2 protein ailesi üyeleri birbirine bağlı sekiz α -sarmal parçasından oluşan BH1, BH2, BH3 ve BH4 olarak adlandırılan dört korunmuş BCL-2 homoloji (BH) domainine sahiptir (Luna-Vargas & Chipuk, 2016). Yüksek oranda korunluk gösteren BH domainleri, BCL-2 ailesi moleküllerinin karakterizasyonu ve işlevlerini belirleyen en önemli faktördür. Aile üyesi her proteinin homolojisine ve işlevine göre buldukları BH domainine göre memelilerde bulunan BCL-2 proteinleri üç alt gruba ayrılır. Buna göre BCL-2 ve BCL-XL anti-apoptotik proteinler, BAX ve BAK proapoptotik proteinler, BAD ve BID BH3-domain proteinleri (Choi ve ark., 2005).

Anti-apoptotik protein ailesine dahil olan BCL-2 ve BCL-XL hücreler üzerinde anti-apoptotik aktivite sergilerler ve domain yapılarına bakıldığında BH1- BH4 domain homolojisi gösterirler. Proapoptotik protein ailesine dahil BAX ve BAD hücreler üzerinde proapoptotik aktiviteler sergilerler ve domain yapılarına bakıldığında BH1, BH2 ve BH3 domain homolojisini paylaşırlar. Ancak bu aileye dahil üyelerde BH4 domaini bulunmamaktadır. Son olarak ise yalnızca BH3 domaini içeren proapoptotik protein ailesi üyeleri BAD ve BID'dır. Bu proteinlerin hücreler üzerindeki proapoptotik aktiviteleri yalnızca sahip oldukları BH3 domaini tarafından regüle edilir ve sahip oldukları tek domain olan BH3 domaini nedeniyle BH3 proteinleri olarak adlandırılırlar (Petros ve ark., 2004).

Domain yapılarını kendi içinde ele alacak olursak BH4 domaini kararlı bağlanmadan sorumludur ve yerleşim alanı olarak BH3 domainini de kapsar. Bundan dolayı BH3 domaininin etkisini inhibe eder. Özellikle BH3 ve BH4 domainine sahip BCL-2 ve BCL-XL proteinlerine bakıldığında bu proteinlerin anti-apoptotik etki gösterme sebepleri bundan kaynaklanır. Çünkü etkisi baskılanan BH3 domaini apoptotik karakterini gösteremez. BH3 domaini pro-apoptotik proteinlerin ve anti-apoptotik proteinlerin dimer oluşturması için gereklidir ve bu dimerizasyonda BCL-2 aile üyelerinin pro-apoptotik fonksiyona sahip olmalarını sağlar. BH4 domaini BCL-2 ailesi proteinlerinin antiapoptotik işlevinde oldukça önemlidir ve apoptotik proteinlere özgüdür. BH4 domaini olmadığında ya da bloke edildiğinde BCL-2 ailesi proteinleri anti-apoptotik yeteneğini tamamen kaybeder. Ayrıca BH4 domaini olmayan proteinler hedef diziyeye bağlanma etkisindedir kaybeder. BH4 domaini delesyon çalışmaları proteinin anti-apoptotik işlevini kaybetmesine ve hatta pro-apoptotik bir mutant üretmesine neden olduğunu göstermektedir. Ayrıca BH4 domaini anjiyogenez, otofaji ve diğer apoptoz yolların regülasyonundaki efektör moleküllerin ve apoptoz düzenleyicilerin ifadesini de belirlemektedir (Gabellini ve ark., 2017).

2.1. BCL-2 ailesinin anti-apoptotik proteinleri

BCL-2 protein ailesinin anti-apoptotik aktiviteleri ve hücrel zarlara bağlanma yetenekleri BH4 ve transmembran domainlerinin varlığı ile belirlenir (Dadsena ve ark., 2021). BCL-2 protein ailesinin anti-apoptotik proteinleri, mitokondriyal membran geçirgenlik değişikliğini regüle ederek apoptozun düzenlenmesine katılır. BCL-2 protein ailesinin anti-apoptotik karaktere sahip birçok izoformları vardır. Bunlar; BCL-2, BCL-2-like 1 (BCL-XL), BCL-2-like 2 (BCLW), BCL-2 ile ilişkili protein A1 (BFL-1) ve miyeloid hücreli lösemi -1 (MCL-1)'dir. Bu proteinler esas olarak mitokondride bulunurlar ve mitokondriyal membran geçirgenliğini regüle ederler (Pinton ve ark., 2000; Dai ve ark., 2016; Tilokani ve ark., 2018).

2.1.1. BCL-2

BCL-2, BCL-2 protein ailesindeki en karakteristik anti-apoptotik proteindir. Protein boyutu 26 kDa'dur ve 18. kromozom üzerinde yer alır. BAX ile heterodimer oluşturarak apoptozu inhibe edebilir. Ayrıca Ca^{2+} konsantrasyonunu ve antioksidan seviyesini düzenleyerek hücre canlılığını regüle etmektedir (Park ve ark., 2021). Bunun yanı sıra kaspaz-9, 3, 6 ve 7'nin aktivitelerini de inhibe edebilir, böylece apoptozu inhibe ederek tümör hücrelerinin yaşam sürelerini uzatır ve hücrelerin malign transformasyonuna neden olur (Arbab ve ark., 2012; Siddiqui ve ark., 2015).

2.1.2. BCL-XL

BCL-XL proteini, BCL-2 protein ailesinde uzamsal yapısı aydınlatılmış ilk proteindir (Lee & Fairlie, 2019). Çoklu BH domain proteinleri arasında BCL-XL, BH domaini bakımından en uzun diziye sahiptir (González-García ve ark., 1994). Mitokondri dış zarında yer alan bir proteinler nükleer proteinlere bağlanan ve transkripsiyon faktör aktivitesini düzenleyen nükleer membran transmembran proteinleridir (Bessou ve ark., 2020). BCL-XL'nin tümör hücrelerdeki yüksek ekspresyon seviyesi, apoptoz direnci, proliferasyon, hücre büyümesi ve metastaz, anjiyogenez ve invaziv karakterle ilişkilidir. Yapılan çalışmalar kanser hücrelerindeki BCL-XL proteini ekspresyon seviyesinin sağlıklı hücrelere oranla daha yüksek olduğunu göstermektedir (Hartman & Czyz, 2020).

2.1.3. BCL-W

BCL-W, insan kromozomu 14q11'e lokalizedir. BCL-W proteini BAX, BAK, BAD, BIM ve PUMA proteinleri ile etkileşime girerek apoptozu regüle eder (O'Connor ve ark., 1998; Ayllón ve ark., 2002; Zhu ve ark., 2020). BCL-W proteini esas olarak mitokondride bulunmaktadır ancak apoptoz sırasında mitokondriyal membran yapısına girerek apoptozu regüle eder (O'Reilly ve ark., 2001). BCL-W ekspresyonu çeşitli sinyal yolları tarafından kontrol edilir. Regülasyon birçok transkripsiyon faktörü tarafından regüle edilir (Gong ve ark., 2013). BCL-W'nin yarı ömrü oldukça kısadır. Hücrelerin yaşlanması düzenlerken, ilaca dirençli hücrelerin de hayatta kalmasına yardımcı olur (Yamaguchi ve ark., 2019). Ayrıca hücre migrasyonu ve invazyonunu teşvik etmektedir (Nazeri ve ark., 2020).

2.1.4. BFL-1

BFL-1, GRS veya BCL2A1 (murin) olarak da bilinir ve BCL-2 ailesinin 175 aminoasitlik dizisi ile en küçük moleküllerinden birisidir (Harvey ve ark., 2020). BFL-1, yüksek oranda korunmuş BH1 ve BH2, BH3 ve BH4 domainlerini ihtiva eder. NOXA ve BID gibi proapoptotik proteinlere bağlanır (Caro-Gómez ve ark., 2019). Mitokondride yerleşim gösterir ve anti-apoptotik fonksiyonlar gerçekleştirir (Liu ve ark., 2021). Ayrıca allerjik reaksiyonda makrofaj ve mast hücrelerinin proliferasyonu, BFL-1'in Beclin-1 proteinine bağlanması ile düzenlenmektedir (Kathania ve ark., 2011). Anti-apoptotik BFL-1 BAX ve BAK dimerizasyonunu inhibe ederek mitokondriyal membranın depolarizasyonu ve apoptotik faktörlerin salınması da engellemektedir. Bu şekilde BFL-1 tarafından bloke edilen yolak apoptozu inhibe eder (Harvey ve ark., 2020; Feng ve ark., 2022).

2.2. BCL-2 ailesinin proapoptotik proteinleri

Apoptoz, esas olarak mitokondriyal dış zar geçirgenliği (MOMP) ile ilgilidir. MOMP meydana gelirse, mitokondriyal membran boşluğunda bulunan pro-apoptotik proteinler sitoplazmaya salınır ve hücre apoptozunu destekleyen bir kaspaz kaskadını tetikler (Qian ve ark., 2022).

2.2.1. BAX

BAX proteinleri temel olarak ailesel yapısal özelliklere sahip domainlere sahiptir: BH1, BH2 ve BH3 (Lalier ve ark., 2007). Aktive edilmiş BAX, oligomerizasyon yoluyla mitokondrinin dış zarında gözenekler oluşturur (Hantusch ve ark., 2018). BAX ve BCL-2 ayrı ayrı etki gösterebilir ya da dimer oluşturmak için birbirleriyle etkileşime girebilirler. Bu proteinlerin seviyesi doğrudan apoptozun

düzenlenmesi ile ilgilidir: BAX arttığında, hücre apoptozu indüklenecektir, BCL-2 arttığında ise apoptoz inhibe etmiş olacaktır (Edlich, 2018). BAX genellikle sitoplazmada bulunur ancak apoptoz sırasında BAX, mitokondriyal membrana bağlanarak geçirgen bir membran oluşturarak mitokondriyal bir membran kanalı oluşturur (Hauseman ve ark., 2020). Apoptoz süreci, mitokondriyal membrana BAX insersiyonunu inhibe ederek veya doğrudan/ dolaylı olarak BAX kanallarının aktivitesini inhibe ederek sitokrom C salınımı ile regüle olur. Hücreler apoptoz sinyallerine yanıt verdiğinde, BAX mitokondri yüzeyinde yer değiştirir ve mitokondri zarının bütünlüğünü bozarak etki gösterir (Jeng ve ark., 2018). BAX aktivitesi esas olarak tümör P53 ve BCL-2 ailesinin diğer üyeleri tarafından sitoplazma birikim miktarının bağlı olarak değişkenlik gösterir (Lee & Oh, 2021).

2.2.2. BAK

BAK, apoptotik sinyallerle aktive olan transmitokondriyal membran proteini olan bir diğer önemli apoptotik efektördür (Dai ve ark., 2011). BAK, BCL-2'nin BH1, BH2 ve BH3'ü ile yüksek homolojiye sahiptir (Jeng ve ark., 2018). Bu nedenle BAK, apoptoz sürecinde aktif rol oynayan önemli bir regülatör proteindir (Peña-Blanco & García-Sáez, 2018). BAK geni tarafından kodlanan BAK proteini doğrudan veya dolaylı olarak apoptozu teşvik edebilir. BAK tek başına BCL-2 ve BCL-XL'in apoptoz aktivitesini inhibe ederek apoptozu dolaylı olarak indükleyebilir (Imre, 2020; Chen ve ark., 2022). BAK, doğrudan apoptoz yolunu aktive edebilir (Flores-Romero ve ark., 2020; Luo ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2020). Yapılan araştırma bulguları, BAK ekspresyonunun eksikliğinin mide, cilt, pankreas ve kolorektal kanserleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Carberry ve ark., 2018; Jackson ve ark., 2000; Westphal & Kalthoff, 2003; Kondo ve ark., 2020).

2.2.3. BOK

BCL-2 ailesinin yüksek oranda korunmuş bir üyesidir ve çok domainli BCL-2 ailesinin üyeleriyle aynı dizilim ve yapıya sahiptir. BOK proteini, BAX ve BAK kadar kararlı değildir ve hücresele seviyesi endoplazmik retikulumla ilişkili degradasyon (ERAD) yolu tarafından düzenlenir (Schulman ve ark., 2019). İnsan BOK'u, BCL-2'de bir lösün sekansına sahip tek proteindir ve yüksek BOK ekspresyonu, mitokondri, ER ve golgi cisimciklerinde morfolojik değişiklikleri hızlandırır. Bu bulgu, BOK'un organel zarlarının şekillendirilmesinde önemli bir rol oynayabileceğini ve BH3 alanında nükleer çıkış sinyallerinin varlığını önermektedir (Schulman ve ark., 2019; Shalaby ve ark., 2020; Roufayel ve ark., 2022).

2.2.4. BCL-XS

BCL-XS, BCL-2 ailesinin pro-apoptotik bir üyesi ve BCL-2 ile BCL-XL'nin bir ters regülatörü olan BCL-X'in küçük bir fragmentli mRNA ürünüdür (González-García ve ark., 1994; Park ve ark., 2021). BH3, BH4 ve transmembran bölgeleri dahil olmak üzere mitokondride bulunur ve sitokrom C'nin serbest bırakılması yoluyla BH3'e bağlı bir şekilde apoptoz ve kaspaz aktivasyonu ile indüklenir. BH3 ve BH4 domainlerini ve bir transmembran bölgesini içerir. BCL-XS apoptozu ve sitokrom c salınımını içeren bir mekanizma ile kaspaz aktivasyonunu indükler (Zhang ve ark., 2020). Lindenboim ve ark. BAX'in tek başına apoptozu indükleyebileceğini ve apoptotik üyeler ve BCL-2'nin birden fazla alanında apoptotik cisimler içermeyen farelerden alınan embriyonik fibroblastları kullanarak apoptoz mekanizmasını tetikleyebileceğini ve BCL-XS tarafından indüklenen apoptotik mekanizmanın BAK'ın aktivasyonuna bağlı olduğunu bulmuşlardır (Lindenboim ve ark., 2005).

2.3. Yalnızca BH3 domainli proteinler

Yalnızca BH3 domainli proteinler sınıfına dahil olan BCL-2 ailesi üyeleri; BAD, BIM, BID ve PUMA'dır. Hücredeki apoptotik sinyallere verilen yanıtlardan en önemlisi BH3 domainli proteinler tarafından regüle olmaktadır. Apoptotik sinyaller dahilinde BH3 domainli proteinlerin ifadesi artar ve posttranslasyonel modifikasyonlar meydana gelir (Montero & Letai, 2018). İki önemli etki yoluna sahiptirler; BAX ve BAK'ı aktif hale getirebilir veya hayatta kalma proteinlerini aktive edip BAX ve BAK proteinlerini inhibe edebilir (Matthew-Onabanjo ve ark., 2020).

2.3.1. BAD

BAD geninin proapoptotik etkiye sahip bir proteindir. BAD ve BCL-2 arasındaki heterodimer oluşumu BCL-2'nin anti-apoptotik etkisinin inhibe eder (Luo ve ark., 2021). BAD geni aslında Ser112, Ser136 ve Ser155 rezidülerinin fosforillenmesiyle apoptozu indükler (Boac ve ark., 2019). BAD'nin yüksek ekspresyonu, tümör hücresi apoptozu ile yakından ilişkilidir. Bu nedenle, BAD ekspresyonunun teşvik edilmesi, tümör tedavisinde giderek daha fazla dikkat çekmiştir (Wu ve ark., 2020).

2.3.2. BIM

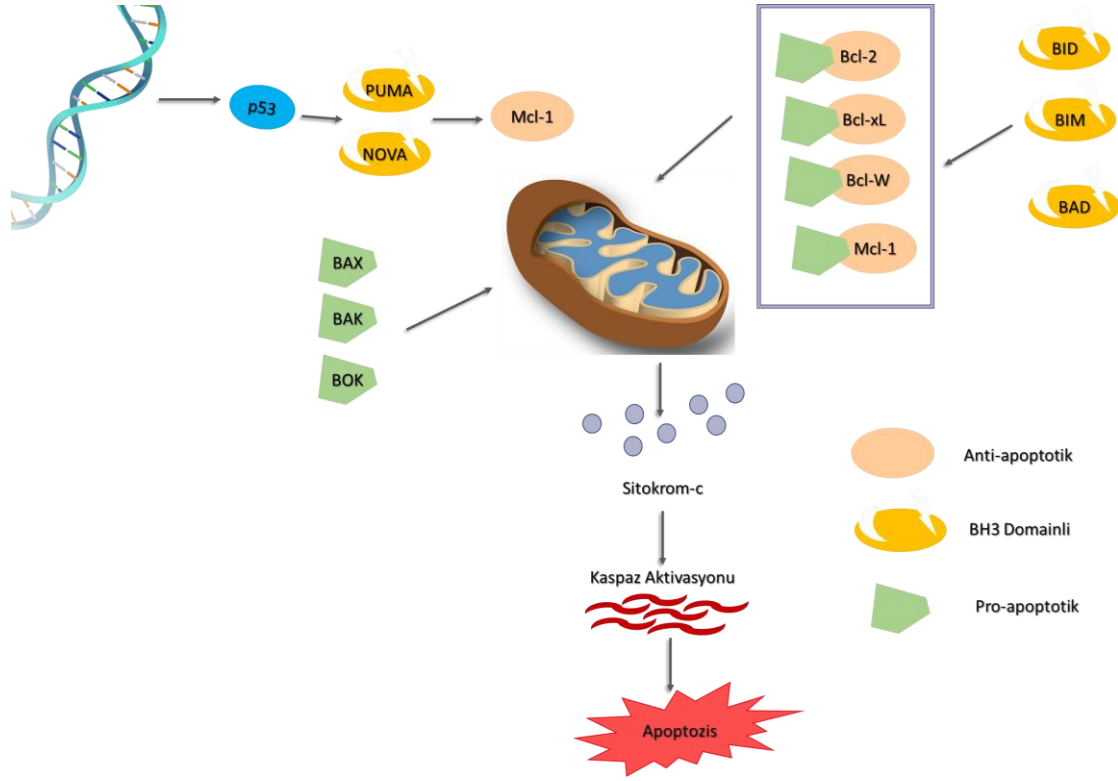
BIM proteini mikrotübüller veya diğer hayatta kalma yanlısı proteinlerle kompleks oluşturarak inaktif durumda bulunur (Westphal ve ark., 2011). BID proteini epitel hücrelerde, üreme hücrelerinde, hematopoietik hücrelerde, sinir hücrelerinde ve diğer normal doku hücrelerinde bulunur ve tümör oluşumunda ayrıca otoimmünitenin düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynar (O'Reilly ve ark., 2000). BIM proteini, hücrel olarak uyarıldıktan sonra sitoplazmik protein kompleksinden ayrılır ve apoptozu indükler (Liu ve ark., 2019). Bunlara ek olarak BIM, hücre DNA hasarını indükleyerek ve ölüm sinyallerinin iletilmesinde önemli bir rol oynarlar. BIM gen ekspresyonunun artışı, tümör hücrelerinin apoptotik aktivitesini artırır (Matuszyk & Klopowska, 2020; Mei ve ark., 2020).

2.3.3. BID

BID proteininin biyolojik etkisi apoptozu indüklemek olan proapoptotik bir proteindir. Tam uzunluktaki BID, normal fizyolojik koşullar altında genellikle etkin değildir (Lim ve ark., 2021). BID aktivasyon yolu genellikle FAS/TNF-R1 ölüm reseptör sinyal yollarına yanıt olarak kaspaz 8 tarafından aktive edilir (Yin, 2000). BID'nin BH3 domaini, BCL-2 ve BCL-XL tarafından indüklenen hücre canlılığını azaltmak için BCL-2, BCL-XL ve BAX ile çalışır (Greaves ve ark., 2019). Normalde aktif BID sitoplazmada bulunur, ancak hücreler bölünmeye başladığında BID kesilir ve mitokondriye taşınır. BID proteininin neden olduğu mitokondriyal sitokrom C salımı, mitokondriyal geçirgenlik değiştirme kanallarından bağımsızdır. BID proteini genellikle BAX proteini ile çalışarak BAX'ın mitokondri ile füzyonunu hızlandırır, böylece BAX'ın yapısını değiştirir ve BAX'ın neden olduğu mitokondriyal hasarı artır (Lee ve ark., 2018; Hung ve ark., 2021).

2.3.4. PUMA

2001 yılında kolon kanseri hücrelerinde keşfedilen proapoptotik bir gen olan PUMA, BBC3 (BCL-2 bağlayıcı bileşen 3) olarak da adlandırılır, mitokondrinin dış zarında bulunur (Nakano & Vousden, 2001; Zheng ve ark., 2020). PUMA, apoptozu teşvik etmek için BCL-2/BCL-XL'nin (Sun ve ark., 2020) BH1, BH2 ve BH3'ü ile etkileşime girerek BCL-2 anti-apoptotik inhibitör etkisini ortadan kaldırır. Ayrıca doğrudan BAX/BAK üzerinde etki ederek hücreyi apoptoza yönlendirir (Li, 2021). Otofaji hücre ölümü, ökaryotlarda hücre ölümünün bir başka önemli biyolojik modudur. PUMA'nın BH3 domainin bağlanma işleviyle doğrudan mitokondriyal otofajiye katılabilir veya BAX/BAK tarafından seçici olarak PUMA'nın inaktif hale getirilmesiyle mitokondriyal otofajiyi indüklenebilir (Han ve ark., 2021; Li ve ark., 2021; Saha ve ark., 2021; Roufayel ve ark., 2022).



Şekil 1. Apoptotik moleküllerin düzenlenmesi (Qian ve ark., 2022).

2.4. BCL-2 ailesi proteinlerinin apoptozu düzenlemedeki mekanizması

Reaktif oksijen türleri (ROS), oksijen içeren reaktif kimyasallardır. ROS, normal oksijen metabolizmasının doğal bir yan ürünü olarak oluşur. Hücre sinyal yollarında ve homeostazda önemli rollere sahiptir (Bergamini ve ark., 2004; Lennicke & Cochemé, 2021). ROS, fizyolojik ve patolojik koşullar altında apoptozun indüklenmesinde önemli roller oynar (Simon ve ark., 2000). ROS tarafından indüklenen apoptotik mekanizmada mitokondriyal çift katmanlı zarın geçirgen gözenekleri (PT gözenekleri) açılır. Kalsiyum iyonları, sitokrom C ve apoptozu tetikleyen faktör AIF'yi serbest bırakır ve kaspaz aktivasyonu başlar (Orrenius, 2007).

Apoptozun üç ana yolu açıklığa kavuşturulmuştur. Bunlardan biri, TNF reseptör üst ailesindeki ölüm reseptörlerini bağlayarak aktive olan ve üç ana reseptör indükleyen alt apoptoz sinyal yolunu, yani CD95/CD95L, TNFR ve AP03L/TRAILR 'yi içeren ekzojen/ölüm reseptör yoludur. Bu yolların ortak özelliği, apoptoz sinyalinin başlatılmasının reseptörün ligant aracılığıyla oluşturulması ve ardından kaspaz kaskadının uyarılarak apoptozun aktif olmasıdır (Schneider & Tschopp, 2000; Guicciardi & Gores, 2009; Meng ve ark., 2020). Diğer apoptoz yolu, mitokondriden bağımsız yoldur. Ökaryotlarda enerji ve metabolizma merkezi olan mitokondri, hücre apoptoz sinyal iletiminin düzenlenmesinde de anahtar rol oynar (Xia ve ark., 2019). Mitokondriden sitokrom C'nin salınması apoptoz süreçteki en önemli adımdır. dATP varlığında, sitoplazmaya salınan sitokrom C, APAF-1'e bağlanarak bir polimer oluşturur. Kaspaz-9 APAF-1'e bağlanarak apoptotik cisimler oluşur ve kaspaz-9 aktive olur (Kalpage ve ark., 2019). Aktifleştirilmiş Kaspaz-9, kaspaz-3 gibi diğer kaspazları indükler ve böylece apoptoz başlatılmış olur. Üçüncü apoptoz yolu endoplazmik retikulum yolu olarak adlandırılır. Endoplazmik retikulum (ER), esas olarak hücre fonksiyonlarının dinamik dengesinin sağlanmasından sorumlu olan hücrelerde çok amaçlı bir organdır (Fernández ve ark., 2015). İç ortam değiştiğinde, ER homeostazının dengesizliğine neden olur ve böylece endoplazmik retikulum stresini (ERS) indükler. ERS'nin erken başlangıcı, hücre hayatta kalmasını desteklerken, uzun süreli ERS, apoptoz yollarının başlamasını tetikler. BCL-2'nin aşırı ekspresyonu, oksijensiz radikal üretimini ve lipid peroksit oluşumunu azaltır. BCL-2 proteini kalsiyum iyonlarının transmembran akışını azaltmaktadır bu da BCL-2'nin kalsiyum kanalları yoluyla apoptozu düzenlediğini düşündürür. Apoptotik faktörler endoplazmik retikuluma birikir ve Ca^{2+} salarak haberci kaspaz-12'yi aktive eder, aktive edilen kaspaz-12 sonrasında sırasıyla

kaspaz-9 ve kaspaz-3'ü aktive eder ve sonunda apoptoza yol açar. Yukarıdaki üç yol sonunda aynı noktada birleşir; yani, aktive edilmiş kaspaz 8, kaspaz 9 ve kaspaz 12, kaspaz 3'ü keser ve aktive eder, bu da sonuçta apoptoza yol açar (Jeong & Seol, 2008; Kim & Kim, 2018).

Apoptoz, doku homeostazında, özellikle hematopoietik kompartmanda çok önemli bir rol oynar ve DNA hasarı, tümör oluşumu veya otoimmün hastalıklara neden olmaktadır (Tsujimoto ve ark., 1985). BCL-2 protein ailesinin üyeleri arasındaki etkileşimler, stres altındaki hücrelerin hayatta kalıp kalamayacağını büyük ölçüde belirler. BCL-2 ailesinin dört ana işlevi vardır: inhibe edici etkiler (BCL-2, BCL-XL, BCL-W, BCL2-A1 ve MCL-1), aktivasyon (BIM ve PUMA), efektör (BAX ve BAK) ve sensitizasyon (NOXA). BCL-2 ve homologları hücrenin hayatta kalmasını desteklerken, diğer gruptaki proteinler apoptozu destekler (Suraweera ve ark., 2021). Memeli hücrelerinde, çoğu dış mitokondriyal zarın üzerinde bulunan ve dış mitokondriyal zarın geçirgenliğini düzenlerler. Yalnızca BH3 domaini içeren proteinler stres sinyallerini algılar ve iletebilir. Prosurvival proteinler kanser, otoimmünite ve viral enfeksiyonlar için çok önemli terapötik hedeflerdir (Kelly & Strasser, 2011).

2.5. BCL-2 ailesi proteinlerinin kanserlerin apoptozunu düzenlemedeki rolü

Apoptoz inhibisyonu, kanser proliferasyonunun ana nedenidir ve BCL-2 ailesi üyeleri, apoptozun düzenlenmesinde merkezi bir rol oynar. Kanserlerin onkogenezi genellikle BCL-2 ailesi proteinlerinin üyelerinin anormal ekspresyonu ile ilişkilidir. Göğüs kanseri, mide kanseri, prostat kanseri ve hepatoselüler karsinom dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde BCL-2 proteininin ekspresyonunu dikkat çekmektedir. Açıkçası, birçok kanser hücresinde BCL-2 proteininin ekspresyon seviyesi önemli ölçüde artar. Ek olarak, yüksek antiapoptotik protein seviyesi, normal hücre apoptoz mekanizmasını da bozarak, tümör hücrelerini apoptotik sinyallere karşı duyarsız hale gelmesini, büyüme mekanizmasının indüklenerek aşırı büyümelerine neden olur (Qian ve ark., 2022).

2.5.1. BCL-2 ve mide kanseri

Mide kanseri, mide mukozasından köken alan kötü huylu bir tümördür (Adams & Cory, 2007). Ishida ve arkadaşları ilk kez deoksinükleotit terminal transferaz aracılı (DUtP-biotin) terminal etiketleme teknolojisini kullanmış ve mide kanserli hastaların dokularında apoptozun var olduğunu bulmuşlardır. Apoptozun mide kanseri gelişimi ile çok önemli bir ilişkisi olduğunu ve kanser öncesi lezyonlardaki birçok hücrenin apoptoz geçirdiğini bulmuşlardır. Aslında, mide kanserinin ortaya çıkması sırasında, genel mide mukozasının apoptotik etkisi büyük ölçüde zayıflayacak, bu da kanser hücrelerinin hayatta kalmasına ve çok sayıda hücrenin birikmesine neden olacaktır (Ishida ve ark., 1996). Ek olarak, BCL-2'nin sadece apoptozu inhibe etmediğini, aynı zamanda tümör baskılayıcı genlerin bir antagonisti olarak da hareket ettiği gösterilmiştir. Bu genler mutasyona uğradığında, kaybolduğunda veya inaktive edildiğinde hücrelerde habis transformasyonu ve tümör oluşumu gözlenir. BCL-2 vücutta yüksek oranda ifade edildiğinde, kanser hücreleri tedavi sırasında ilaçlara veya kemoterapiye direnç gösterecek ve kanserin terapötik etkisini azaltacaktır. BCL-2, gastrik mukozanın anormal hiperplazisi mevcut olduğunda yüksek oranda eksprese edilir. BCL-2'nin ekspresyonu, mide kanserinin erken evresinde en yüksek seviyede, kanser gelişimi sırasında kademeli olarak azalmaktadır (Adams & Cory, 2007).

2.5.2. BCL-2 ve meme kanseri

Meme kanseri, meme bezi epitel hücrelerinin çeşitli kanserojen faktörlerin etkisi altında kontrol dışı çoğalma olgusudur ve dünya çapında kadınların yaşantısını, sağlığını ciddi şekilde tehlikeye atan kötü huylu bir tümördür. İnsidansı yıldan yıla artmaktadır ve daha genç yaşlarda görülme sıklığı artmaktadır. Veriler kadın malign tümörlerinin yaklaşık %25'ini oluşturduğunu göstermektedir (Xu ve ark., 2001). Meme kanserinin oldukça heterojen bir tümör olduğu ve hastalık evrimi sürecinde çok genli ve çok aşamalı gibi karmaşık biyolojik süreçler yaşandığı bilinmektedir (Ilkhomovna, 2021). Ek olarak, (Sun & Zhao, 2021), meme kanseri oluşumunun sadece bazı protoonkogenlerin ve tümör baskılayıcı genlerin mutasyonu, silinmesi veya aktivasyonu ile değil, aynı zamanda apoptozun inhibisyonu ile de ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Aslında, hücre apoptozunda yer alan BCL-2 geni, meme kanseri oluşumu ve meme kanseri hücrelerinin çoğalması ile yakından ilişkilidir. BCL-2 geninin

sadece apoptozu inhibe edemediğini, aynı zamanda hücre döngüsünü uzattığını ve ardından tümör hücresi proliferasyonunu geciktirdiğini yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Bu nedenle, BCL-2 ekspresyonu azaldığında meme kanseri indüklenebilir (Raha ve ark., 2015).

2.5.3. BCL-2 ve lenfoma

Lenfoma, lenfatik hematopoietik sistemden köken alan ve apoptoz mekanizması ile karakterize malign bir tümördür (Sirotković-Skerlev ve ark., 2021). Lenfoma oluşumu sırasında B hücrelerinin apoptozdan kaçışını tetikleyen onkojen aktivasyonu, DNA hasarı ve oksijen ve sitokin eksikliği dahil olmak üzere çok çeşitli stres uyaranlarına maruz kalır. B-hücreli lenfomada BCL-2'nin yüksek ekspresyonu sorununun bulmuş ve anti-apoptotik BCL-2'yi inhibe etmek için bazı klinik yöntemler önererek, B-hücreli lenfomanın nasıl tedavi edileceğinin araştırılmasına olağanüstü katkılar sağlamıştır (Knittel ve ark., 2018).

2.5.4. BCL-2 ve prostat Kanseri

Prostat epitelinde meydana gelen prostat kanseri, erkeklerde en sık görülen malignitedir ve birçok Avrupa ülkesinde kansere bağlı ölümlerin ikinci sıradadır. Malign transformasyonun moleküler yolları ve prostat kanserinin indüklenmesi dikkat çekmektedir. Çeşitli onkogenlerdeki ve tümör baskılayıcı genlerdeki değişiklikler, sonunda proliferasyon ile programlanmış hücre ölümü arasında bir dengesizliğe yol açarak net tümör büyümesine ve tümör ilerlemesine yol açabilir. Örneğin, Bubendorf ve arkadaşları, prostat kanserinde BCL-2'nin aşırı ekspresyonunu tespit etmek için immünohistokimyasal yöntemler kullandılar. Yapılan çalışmalarda lenfositlerde, bazal hücrelerde ve periferik sinir dokusunda BCL-2'nin yüksek seviye ekspresyonu olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, BCL-2'nin aşırı ekspresyonu, prostat kanserinin ilerlemesini ve tümör hücrelerinin hayatta kalma oranını artırır (Bubendorf ve ark., 1996).

2.5.5. BCL-2 ve hepatoselüler karsinom

Hepatoselüler karsinom (HCC), dünyada kansere bağlı ikinci en büyük ölümdür. 5 yıllık sağ kalım oranı sadece %18'dir, yüksek mortalite, güçlü invazivlik, kemoterapi ilaçlarına düşük duyarlılık ve kolay direnç ile karakterizedir (Sia ve ark., 2017). Çalışmalar, BCL-2'nin HCC hastalarında yüksek oranda ekspresye edildiğini ve BCL-2 ailesinin HCC kemodirenç mekanizmasında yer aldığını göstermiştir (Craig ve ark., 2020). BCL-2, hepatoselüler karsinom hücrelerinin apoptozu önleyebilir ve esas olarak Fas/FasL apoptoz yolunu bloke ederek ve BAX ile bir kompleks oluşturup tümör oluşumunu indükler. BCL-2 apoptozu inhibe eder ancak aşırı ekspresyonu ve fosforilasyonu hücre proliferasyonunun düzenlenmesine katılarak tümör oluşumunda ve çoklu ilaç direncinde son derece önemli bir rol oynar. Çalışmalar BCL-2'nin mRNA ve protein seviyelerinin HCC dokularında yukarı regüle edildiğini gösterir (Lohitesh ve ark., 2018).

2.5.6. BCL-2 ve akciğer kanseri

Akciğer kanseri, morbidite ve mortalitesi en hızlı artan, toplumun sağlığı ve yaşamı için en büyük tehdidi oluşturan kötü huylu tümörlerden biridir (Chen & Wu, 2020). Akciğer kanserinde BCL-2 ekspresyonu anormal ise, onarılamaz genetik değişikliklere sahip hücrelerin ölmesi ve hücre döngüsüne girmesi engellenir. Çeşitli genetik değişikliklerin birikmesi tümör oluşumuna yol açabilir (Zhou ve ark., 2019). BCL-2'nin aşırı ekspresyonu, akciğer kanseri erken gelişimine sebep olur. Hastalığın gelişmesiyle birlikte akciğer kanseri hücrelerinin büyüme hızı ve yayılma hızı artmaya devam ederek tedaviyi oldukça zorlaştırır. Ortaya çıkan kanıtlar, BCL-2 ekspresyon seviyesinin erken saptanmasının akciğer kanserli hastaların tedavisi için büyük önem taşıdığını ortaya koymaktadır. Martin ve arkadaşları, BCL-2 aile üyelerinin akciğer kanseri için prognostik göstergeler olarak kullanılabileceğini ve kanserin ileri tedavisine ve önlenmesine olağanüstü katkılar sağladığını bulmuşlardır (Martin ve ark., 2003). Ayrıca, Alam ve arkadaşları, EGFR yolunun küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde (KHDAK) BAX/BCL-2 kaskadını regüle edebildiğini göstermişlerdir. EGFR'nin

inhibisyonu, apoptotik yolları aktive ederek apoptozu uyaran proapoptotik proteinlerin yukarı regülasyonu ile sonuçlanır (Alam ve ark., 2022).

3. Sonuç

BCL-2 protein ailesi üyeleri, apoptozun önemli düzenleyicilerini oluşturur. BCL-2 protein ailesinin pro-hayatta kalma veya pro-apoptotik üyelerinin ekspresyonundaki anormallikler, tümör gelişimini destekler ve habis hücreleri anti-kanser tedavisine dirençli hale getirebilir. Hayatta kalma yanlısı BCL-2 proteinlerini inhibe ederek apoptoz mekanizmasını doğrudan aktive edebilen BH3-domainli proteinler yeni kanser önleyici ilaçların geliştirilmesini sağlamıştır. Yapılan çalışmalar, MCL-1 veya BCL-XL'yi inhibe eden BH3-domainli proteinleri indükleyici ilaçlar için etkili ve tolere edilebilir tedavi programları geliştirmeyi, etkili ve güvenli kanser tedavisi elde etmek için bu ilaçlarla başka hangi anti-kanser ajanlarının birleştirilebileceğini keşfetmeyi amaçlamaktadır. Son birkaç on yılda, kanser tedavisi için BCL-2 inhibitörlerini bulmak için birçok araştırma yapıldı, ancak hala hücresele düzeyde kalan ve nadiren hayvan modelleri oluşturan bazı prospektif ilaçlar var. Bu alanda devam eden araştırmalar, apoptozu kontrol eden hücresele ve moleküler hedefleri tanımlamaya, bunun klinik translyasyon potansiyelini keşfetmeyi amaçlamaktadır.

Kaynakça

- Adams, J. M., & Cory, S. (2007). Bcl-2-regulated apoptosis: mechanism and therapeutic potential. *Current Opinion in Immunology*, 19(5), 488-496. doi:10.1016/j.coi.2007.05.004
- Alam, M., Alam, S., Shamsi, A., Adnan, M., Elsbali, A. M., Abu Al-Soud, W., ... & Hassan, I. (2022). Bax/Bcl-2 cascade is regulated by EGFR pathway: Therapeutic targeting of non-small cell lung cancer. *Frontiers in Oncology*, 12, 869672. doi:10.3389/fonc.2022.869672
- Arbab, I. A., Looi, C. Y., Abdul, A. B., Cheah, F. K., Wong, W. F., Sukari, M. A., ... & Ibrahim Abdelwahab, S. (2012). Dentatin induces apoptosis in prostate cancer cells via Bcl-2, Bcl-xL, Survivin downregulation, caspase-9,-3/7 activation, and NF-κB inhibition. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 856029. doi:10.1155/2012/856029
- Ayllón, V., Cayla, X., García, A., Fleischer, A., & Rebollo, A. (2002). The anti-apoptotic molecules Bcl-xL and Bcl-w target protein phosphatase 1α to Bad. *European Journal of Immunology*, 32(7), 1847-18. doi:10.1002/1521-4141(200207)32:7%3C1847::AID-IMMU1847%3E3.0.CO;2-7
- Bergamini, C. M., Gambetti, S., Dondi, A., & Cervellati, C. (2004). Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. *Current Pharmaceutical Design*, 10(14), 1611-1626. doi:10.2174/1381612043384664
- Bessou, M., Lopez, J., Gadet, R., Deygas, M., Popgeorgiev, N., Poncet, D., ... & Gillet, G. (2020). The apoptosis inhibitor Bcl-xL controls breast cancer cell migration through mitochondria-dependent reactive oxygen species production. *Oncogene*, 39(15), 3056-3074. doi:10.1038/s41388-020-1212-9
- Boac, B. M., Abbasi, F., Ismail-Khan, R., Xiong, Y., Siddique, A., Park, H., ... & Marchion, D. C. (2019). Expression of the BAD pathway is a marker of triple-negative status and poor outcome. *Scientific Reports*, 9(1), 1-14. doi:10.1038/s41598-019-53695-0
- Bubendorf, L., Sauter, G., Moch, H., Jordan, P., Blöchliger, A., Gasser, T. C., & Mihatsch, M. J. (1996). Prognostic significance of Bcl-2 in clinically localized prostate cancer. *The American Journal of Pathology*, 148(5), 1557.
- Carberry, S., D'Orsi, B., Monsefi, N., Salvucci, M., Bacon, O., Fay, J., ... & Prehn, J. H. (2018). The BAX/BAK-like protein BOK is a prognostic marker in colorectal cancer. *Cell Death & Disease*, 9(2), 1-10. doi:10.1038/s41419-017-0140-2
- Carneiro, B. A., & El-Deiry, W. S. (2020). Targeting apoptosis in cancer therapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 17(7), 395-417. doi:10.1038/s41571-020-0341-y
- Caro-Gómez, L. A., Rosas-Trigueros, J. L., Mixcoha, E., Vique-Sánchez, J. L., Gasperin-Sánchez, H., Benítez-Cardoza, C. G., & Zamorano-Carrillo, A. (2019). Exploring the conformational space of Bcl-2 protein variants: dynamic contributions of the flexible loop domain and transmembrane region. *Molecules*, 24(21), 3896. doi:10.3390/molecules24213896

- Chen, S., & Wu, S. (2020). Identifying lung cancer risk factors in the elderly using deep neural networks: quantitative analysis of web-based survey data. *Journal of Medical Internet Research*, 22(3), e17695. doi:10.2196/17695
- Chen, P. H., Hsueh, T. C., Wu, J. L., & Hong, J. R. (2022). Infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) triggers mitochondria-mediated dynamic interaction signals via an imbalance of Bax/Bak over Bcl-2/Bcl-xL in fish cells. *Viruses*, 14(5), 922. doi:10.3390/v14050922
- Choi, J., Choi, K., Benveniste, E. N., Hong, Y. S., Lee, J. H., Kim, J., & Park, K. (2005). Bcl-2 promotes invasion and lung metastasis by inducing matrix metalloproteinase-2. *Cancer Research*, 65(13), 5554-5560. doi:10.1158/0008-5472.can-04-4570
- Craig, A. J., Von Felden, J., Garcia-Lezana, T., Sarcognato, S., & Villanueva, A. (2020). Tumour evolution in hepatocellular carcinoma. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 17(3), 139-152. doi:10.1038/s41575-019-0229-4
- Czabotar, P. E., Lessene, G., Strasser, A., & Adams, J. M. (2014). Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(1), 49-63. doi:10.1038/nrm3722
- Dadsena, S., Jenner, A., & García-Sáez, A. J. (2021). Mitochondrial outer membrane permeabilization at the single molecule level. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 78(8), 3777-3790. doi:10.1007/s00018-021-03771-4
- Dai, H., Smith, A., Meng, X. W., Schneider, P. A., Pang, Y. P., & Kaufmann, S. H. (2011). Transient binding of an activator BH3 domain to the Bak BH3-binding groove initiates Bak oligomerization. *Journal of Cell Biology*, 194(1), 39-48. doi:10.1083%2Fjcb.201102027
- Dai, H., Meng, W., & Kaufmann, S. (2016). BCL2 family, mitochondrial apoptosis, and beyond. *Cancer Translational Medicine*, 2(1), 7-20.
- Edlich, F. (2018). BCL-2 proteins and apoptosis: Recent insights and unknowns. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 500(1), 26-34. doi:10.1016/j.bbrc.2017.06.190
- Feng, X., Yan, Z., Zhou, F., Lou, J., Lyu, X., Ren, X., ... & Zhao, Y. (2022). Discovery of a selective and covalent small-molecule inhibitor of BFL-1 protein that induces robust apoptosis in cancer cells. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 236, 114327. doi:10.1016/j.ejmech.2022.114327
- Fernández, A., Ordóñez, R., Reiter, R. J., González-Gallego, J., & Mauriz, J. L. (2015). Melatonin and endoplasmic reticulum stress: relation to autophagy and apoptosis. *Journal of Pineal Research*, 59(3), 292-307. doi:10.1111/jpi.12264
- Flores-Romero, H., Ros, U., & Garcia-Saez, A. J. (2020). Pore formation in regulated cell death. *The EMBO Journal*, 39(23), e105753. doi:10.15252/embj.2020105753
- Gabellini, C., Trisciuglio, D., & Del Bufalo, D. (2017). Non-canonical roles of Bcl-2 and Bcl-xL proteins: relevance of BH4 domain. *Carcinogenesis*, 38(6), 579-587. doi:10.1093/carcin/bgx016
- Gong, J., Zhang, J. P., Li, B., Zeng, C., You, K., Chen, M. X., ... & Zhuang, S. M. (2013). MicroRNA-125b promotes apoptosis by regulating the expression of Mcl-1, Bcl-w and IL-6R. *Oncogene*, 32(25), 3071-3079. doi:10.1038/onc.2012.318
- González-García, M., Pérez-Ballester, R., Ding, L., Duan, L., Boise, L. H., Thompson, C. B., & Nunez, G. (1994). bcl-XL is the major bcl-x mRNA form expressed during murine development and its product localizes to mitochondria. *Development*, 120(10), 3033-3042. doi:10.1242/dev.120.10.3033
- Greaves, G., Milani, M., Butterworth, M., Carter, R. J., Byrne, D. P., Evers, P. A., ... & Varadarajan, S. (2019). BH3-only proteins are dispensable for apoptosis induced by pharmacological inhibition of both MCL-1 and BCL-XL. *Cell Death & Differentiation*, 26(6), 1037-1047. doi:10.1038/s41418-018-0183-7
- Green, D. R. (2018). *Cell Death. Apoptosis and Other Means to an End*. New York, NY, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Guicciardi, M. E., & Gores, G. J. (2009). Life and death by death receptors. *The FASEB Journal*, 23(6), 1625-1637. doi:10.1096/fj.08-111005
- Han, C. W., Lee, H. N., Jeong, M. S., Park, S. Y., & Jang, S. B. (2021). Structural basis of the p53 DNA binding domain and PUMA complex. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 548, 39-46. doi:10.1016/j.bbrc.2021.02.049

- Hantusch, A., Das, K. K., García-Sáez, A. J., Brunner, T., & Rehm, M. (2018). Bax retrotranslocation potentiates Bcl-xL's antiapoptotic activity and is essential for switch-like transitions between MOMP competency and resistance. *Cell Death & Disease*, 9(4), 1-13. doi:10.1038/s41419-018-0464-6
- Hartman, M. L., & Czyz, M. (2020). BCL-w: apoptotic and non-apoptotic role in health and disease. *Cell Death & Disease*, 11(4), 1-16. doi:10.1038/s41419-020-2417-0
- Harvey, E. P., Hauseman, Z. J., Cohen, D. T., Rettenmaier, T. J., Lee, S., Huhn, A. J., ... & Walensky, L. D. (2020). Identification of a covalent molecular inhibitor of anti-apoptotic BFL-1 by disulfide tethering. *Cell Chemical Biology*, 27(6), 647-656. doi:10.1016/j.chembiol.2020.04.004
- Hauseman, Z. J., Harvey, E. P., Newman, C. E., Wales, T. E., Bucci, J. C., Mintseris, J., ... & Walensky, L. D. (2020). Homogeneous oligomers of pro-apoptotic BAX reveal structural determinants of mitochondrial membrane permeabilization. *Molecular Cell*, 79(1), 68-83. doi:10.1016/j.molcel.2020.05.029
- Hung, C. L., Chang, H. H., Lee, S. W., & Chiang, Y. W. (2021). Stepwise activation of the pro-apoptotic protein Bid at mitochondrial membranes. *Cell Death & Differentiation*, 28(6), 1910-1925. doi:10.1038/s41418-020-00716-5
- Ilkhomovna, K. D. (2021). Morphological features of tumor in different treatment options for patients with locally advanced breast cancer. *International Journal of Innovative Analyses and Emerging Technology*, 1(2), 4-5.
- Imre, G. (2020). Cell death signalling in virus infection. *Cellular Signalling*, 76, 109772. doi:10.1016/j.cellsig.2020.109772
- Ishida, M., Gomyo, Y., Tatebe, S., Ohfuji, S., & Ito, H. (1996). Apoptosis in human gastric mucosa, chronic gastritis, dysplasia and carcinoma: analysis by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end labelling. *Virchows Archiv*, 428(4), 229-235. doi:10.1007/bf00196695
- Jackson, S., Harwood, C., Thomas, M., Banks, L., & Storey, A. (2000). Role of Bak in UV-induced apoptosis in skin cancer and abrogation by HPV E6 proteins. *Genes & Development*, 14(23), 3065-3073. doi:10.1101/2Fgad.182100
- Jeng, P. S., Inoue-Yamauchi, A., Hsieh, J. J., & Cheng, E. H. (2018). BH3-dependent and independent activation of BAX and BAK in mitochondrial apoptosis. *Current Opinion in Physiology*, 3, 71-81. doi:10.1016/j.cophys.2018.03.005
- Jeong, S. Y., & Seol, D. W. (2008). The role of mitochondria in apoptosis. *BMB Reports*, 41(1), 11-22. doi:10.5483/bmbrep.2008.41.1.011
- Kaloni, D., Diepstraten, S. T., Strasser, A., & Kelly, G. L. (2022). BCL-2 protein family: Attractive targets for cancer therapy. *Apoptosis*, 28, 20-38. doi:10.1007/s10495-022-01780-7
- Kalpage, H. A., Bazylanska, V., Recanati, M. A., Fite, A., Liu, J., Wan, J., ... & Huttemann, M. (2019). Tissue-specific regulation of cytochrome c by post-translational modifications: respiration, the mitochondrial membrane potential, ROS, and apoptosis. *The FASEB Journal*, 33(2), 1540-1553. doi:10.1096/fj.201801417r
- Kathania, M., Raje, C. I., Raje, M., Dutta, R. K., & Majumdar, S. (2011). Bfl-1/A1 acts as a negative regulator of autophagy in mycobacteria infected macrophages. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 43(4), 573-585. doi:10.1016/j.biocel.2010.12.014
- Kelly, P. N., & Strasser, A. (2011). The role of Bcl-2 and its pro-survival relatives in tumorigenesis and cancer therapy. *Cell Death & Differentiation*, 18(9), 1414-1424. doi:10.1038/cdd.2011.17
- Kim, C., & Kim, B. (2018). Anti-cancer natural products and their bioactive compounds inducing ER stress-mediated apoptosis: A review. *Nutrients*, 10(8), 1021. doi:10.3390/nu10081021
- Knittel, G., Rehkämper, T., Nieper, P., Schmitt, A., Flümman, R., & Reinhardt, H. C. (2018). DNA damage pathways and B-cell lymphomagenesis. *Current Opinion in Hematology*, 25(4), 315-322. doi:10.1097/moh.0000000000000433
- Kondo, S., Shinomura, Y., Miyazaki, Y., Kiyohara, T., Tsutsui, S., Kitamura, S., ... & Matsuzawa, Y. (2000). Mutations of the bak gene in human gastric and colorectal cancers. *Cancer Research*, 60(16), 4328-4330.

- Lalier, L., Cartron, P. F., Juin, P., Nedelkina, S., Manon, S., Bechinger, B., & Vallette, F. M. (2007). Bax activation and mitochondrial insertion during apoptosis. *Apoptosis*, 12(5), 887-896. doi:10.1007/s10495-007-0749-1
- Lee, E. F., & Fairlie, W. D. (2019). The structural biology of Bcl-xL. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9), 2234. doi:10.3390%2Fijms20092234
- Lee, H. Y., & Oh, S. H. (2021). Autophagy-mediated cytoplasmic accumulation of p53 leads to apoptosis through DRAM-BAX in cadmium-exposed human proximal tubular cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 534, 128-133. doi:10.1016/j.bbrc.2020.12.019
- Lee, Y. S., Lee, D. H., Choudry, H. A., Bartlett, D. L., & Lee, Y. J. (2018). Ferroptosis-induced endoplasmic reticulum stress: cross-talk between ferroptosis and apoptosis. *Molecular Cancer Research*, 16(7), 1073-1076. doi:10.1158/1541-7786.MCR-18-0055
- Lennicke, C., & Cochemé, H. M. (2021). Redox metabolism: ROS as specific molecular regulators of cell signaling and function. *Molecular Cell*, 81(18), 3691-3707. doi:10.1016/j.molcel.2021.08.018
- Li, M. (2021). The role of P53 up-regulated modulator of apoptosis (PUMA) in ovarian development, cardiovascular and neurodegenerative diseases. *Apoptosis*, 26(5), 235-247. doi:10.1007/s10495-021-01667-z
- Li, W., He, P., Huang, Y., Li, Y. F., Lu, J., Li, M., ... & Feng, D. (2021). Selective autophagy of intracellular organelles: recent research advances. *Theranostics*, 11(1), 222. doi:10.7150/thno.49860
- Lim, Y., De Bellis, D., Sandow, J. J., Capalbo, L., D'Avino, P. P., Murphy, J. M., ... & Kumar, S. (2021). Phosphorylation by Aurora B kinase regulates caspase-2 activity and function. *Cell Death & Differentiation*, 28(1), 349-366. doi:10.1038/s41418-020-00604-y
- Lindenboim, L., Kringel, S., Braun, T., Borner, C., & Stein, R. (2005). Bak but not Bax is essential for Bcl-xS-induced apoptosis. *Cell Death & Differentiation*, 12(7), 713-723. doi:10.1038/sj.cdd.4401638
- Liu, Q., Osterlund, E. J., Chi, X., Pogmore, J., Leber, B., & Andrews, D. W. (2019). Bim escapes displacement by BH3-mimetic anti-cancer drugs by double-bolt locking both Bcl-XL and Bcl-2. *Elife*, 8, e37689. doi:10.7554/elife.37689
- Liu, N., Wang, D., Lian, C., Zhao, R., Tu, L., Zhang, Y., ... & Li, Z. (2021). Selective covalent targeting of anti-apoptotic BFL-1 by a sulfonium-tethered peptide. *ChemBioChem*, 22(2), 340-344. doi:10.1002/cbic.202000473
- Lohitesh, K., Chowdhury, R., & Mukherjee, S. (2018). Resistance a major hindrance to chemotherapy in hepatocellular carcinoma: an insight. *Cancer Cell International*, 18(1), 1-15. doi:10.1186/s12935-018-0538-7
- Luna-Vargas, M. P., & Chipuk, J. E. (2016). The deadly landscape of pro-apoptotic BCL-2 proteins in the outer mitochondrial membrane. *The FEBS Journal*, 283(14), 2676-2689. doi:10.1111/febs.13624
- Luo, X., O'Neill, K. L., & Huang, K. (2020). The third model of Bax/Bak activation: a Bcl-2 family feud finally resolved?. *F1000Research*, 9. doi:10.12688/f1000research.25607.1
- Luo, Y., Wu, Y., Huang, H., Yi, N., & Chen, Y. (2021). Emerging role of BAD and DAD1 as potential targets and biomarkers in cancer. *Oncology Letters*, 22(6), 1-13. doi:10.3892/ol.2021.13072
- Martin, B., Paesmans, M., Berghmans, T., Branle, F., Ghisdal, L., Mascaux, C., ... & Sculier, J. P. (2003). Role of Bcl-2 as a prognostic factor for survival in lung cancer: a systematic review of the literature with meta-analysis. *British Journal of Cancer*, 89(1), 55-64. doi:10.1038/sj.bjc.6601095
- Matthew-Onabanjo, A. N., Janusis, J., Mercado-Matos, J., Carlisle, A. E., Kim, D., Levine, F., ... & Shaw, L. M. (2020). Beclin 1 promotes endosome recruitment of hepatocyte growth factor tyrosine kinase substrate to suppress tumor proliferation. *Cancer Research*, 80(2), 249-262. doi:10.1158/0008-5472.can-19-1555
- Matuszyk, J., & Kłopotowska, D. (2020). miR-125b lowers sensitivity to apoptosis following mitotic arrest: Implications for breast cancer therapy. *Journal of Cellular Physiology*, 235(10), 6335-6344. doi:10.1002/jcp.29610

- Mei, A. H. C., Tung, K., Han, J., Perumal, D., Laganà, A., Keats, J., ... & Cho, H. J. (2020). MAGE-A inhibit apoptosis and promote proliferation in multiple myeloma through regulation of BIM and p21Cip1. *Oncotarget*, 11(7), 727. doi:10.18632/oncotarget.27488
- Meinhardt, A. L., Munkhbaatar, E., Höckendorf, U., Dietzen, M., Dechant, M., Anton, M., ... & Jost, P. J. (2022). The BCL-2 family member BOK promotes KRAS-driven lung cancer progression in a p53-dependent manner. *Oncogene*, 41(9), 1376-1382. doi:10.1038/s41388-021-02161-1
- Meng, X., Zhang, J., Wu, H., Yu, D., & Fang, X. (2020). Akkermansia muciniphila aspartic protease Amuc_1434* inhibits human colorectal cancer LS174T cell viability via TRAIL-mediated apoptosis pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), 3385. doi:10.3390/ijms21093385
- Montero, J., & Letai, A. (2018). Why do BCL-2 inhibitors work and where should we use them in the clinic?. *Cell Death & Differentiation*, 25(1), 56-64. doi:10.1038/cdd.2017.183
- Nakano, K., & Vousden, K. H. (2001). PUMA, a novel proapoptotic gene, is induced by p53. *Molecular Cell*, 7(3), 683-694. doi:10.1016/S1097-2765(01)00214-3
- Nazeri, M., Mirzaie-Asl, A., Saidijam, M., & Moradi, M. (2020). Methanolic extract of Artemisia absinthium prompts apoptosis, enhancing expression of Bax/Bcl-2 ratio, cell cycle arrest, caspase-3 activation and mitochondrial membrane potential destruction in human colorectal cancer HCT-116 cells. *Molecular Biology Reports*, 47(11), 8831-8840. doi:10.1007/s11033-020-05933-2
- O'Connor, L., Strasser, A., O'Reilly, L. A., Hausmann, G., Adams, J. M., Cory, S., & Huang, D. C. (1998). Bim: a novel member of the Bcl-2 family that promotes apoptosis. *The EMBO Journal*, 17(2), 384-395. doi:10.1093/emboj/17.2.384
- O'Reilly, L. A., Cullen, L., Visvader, J., Lindeman, G. J., Print, C., Bath, M. L., ... & Strasser, A. (2000). The proapoptotic BH3-only protein bim is expressed in hematopoietic, epithelial, neuronal, and germ cells. *The American Journal of Pathology*, 157(2), 449-461. doi:10.1016%2FS0002-9440(10)64557-9
- O'Reilly, L. A., Hausmann, G., Moriishi, K., Cory, S., Huang, D. C. S., & Strasser, A. (2001). Tissue expression and subcellular localization of the pro-survival molecule Bcl-w. *Cell Death & Differentiation*, 8(5), 486-494. doi:10.1038/sj.cdd.4400835
- Orrenius, S. (2007). Reactive oxygen species in mitochondria-mediated cell death. *Drug Metabolism Reviews*, 39(2-3), 443-455. doi:10.1080/03602530701468516
- Park, H. A., Broman, K., & Jonas, E. A. (2021). Oxidative stress battles neuronal Bcl-xL in a fight to the death. *Neural Regeneration Research*, 16(1), 12. doi:10.4103%2F1673-5374.286946
- Peña-Blanco, A., & García-Sáez, A. J. (2018). Bax, Bak and beyond—mitochondrial performance in apoptosis. *The FEBS Journal*, 285(3), 416-431. doi:10.1111/febs.14186
- Petros, A. M., Olejniczak, E. T., & Fesik, S. W. (2004). Structural biology of the Bcl-2 family of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1644(2-3), 83-94. doi:10.1016/j.bbamcr.2003.08.012
- Pinton, P., Ferrari, D., Magalhães, P., Schulze-Osthoff, K., Di Virgilio, F., Pozzan, T., & Rizzuto, R. (2000). Reduced loading of intracellular Ca²⁺ stores and downregulation of capacitative Ca²⁺ influx in Bcl-2-overexpressing cells. *The Journal of Cell Biology*, 148(5), 857-862. doi:10.1083%2Fjcb.148.5.857
- Qian, S., Wei, Z., Yang, W., Huang, J., Yang, Y., & Wang, J. (2022). The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. *Frontiers in Oncology*, 12, 985363. doi:10.3389/fonc.2022.985363
- Raha, P., Thomas, S., Thurn, K. T., Park, J., & Munster, P. N. (2015). Combined histone deacetylase inhibition and tamoxifen induces apoptosis in tamoxifen-resistant breast cancer models, by reversing Bcl-2 overexpression. *Breast Cancer Research*, 17(1), 1-16. doi:10.1186%2Fs13058-015-0533-z
- Roufayel, R., Younes, K., Al-Sabi, A., & Murshid, N. (2022). BH3-only proteins Noxa and Puma are key regulators of induced apoptosis. *Life*, 12(2), 256. doi:10.3390%2Flife12020256
- Saha, A., Saleem, S., Paidi, R. K., & Biswas, S. C. (2021). BH3-only proteins Puma and Beclin1 regulate autophagic death in neurons in response to Amyloid-β. *Cell Death Discovery*, 7(1), 1-13. doi:10.1038/s41420-021-00748-x

- Schneider, P., & Tschopp, J. (2000). Apoptosis induced by death receptors. *Pharmacochimistry Library*, 31, 281-286. doi:10.1016/S0165-7208(00)80030-6
- Shalaby, R., Flores-Romero, H., & García-Sáez, A. J. (2020). The mysteries around the BCL-2 family member BOK. *Biomolecules*, 10(12), 1638. doi:10.3390%2Fbiom10121638
- Schulman, J. J., Szczesniak, L. M., Bunker, E. N., Nelson, H. A., Roe, M. W., Wagner, L. E., ... & Wojcikiewicz, R. J. (2019). Bok regulates mitochondrial fusion and morphology. *Cell Death & Differentiation*, 26(12), 2682-2694. doi:10.1038/s41418-019-0327-4
- Sia, D., Villanueva, A., Friedman, S. L., & Llovet, J. M. (2017). Liver cancer cell of origin, molecular class, and effects on patient prognosis. *Gastroenterology*, 152(4), 745-761. doi:10.1053/j.gastro.2016.11.048
- Siddiqui, W. A., Ahad, A., & Ahsan, H. (2015). The mystery of BCL2 family: Bcl-2 proteins and apoptosis: an update. *Archives of Toxicology*, 89(3), 289-317. doi:10.1007/s00204-014-1448-7
- Simon, H. U., Haj-Yehia, A., & Levi-Schaffer, F. (2000). Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction. *Apoptosis*, 5(5), 415-418. doi:10.1023/A:1009616228304
- Sirotković-Skerlev, M., Plavetić, N. D., Sedlić, F., Kuna, S. K., Vrbanec, D., Belev, B., ... & Kulić, A. (2021). Prognostic value of circulating Bcl-2 and anti-p53 antibodies in patients with breast cancer: A long term follow-up (17.5 years). *Cancer Biomarkers*, 30(1), 95-104. doi:10.3233/CBM-201497
- Sun, B., & Zhao, H. (2021). The bioinformatics analysis of RIOX2 gene in lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. *Plos one*, 16(12), e0259447. doi:10.1371/journal.pone.0259447
- Sun, Y. L., Jiang, W. Q., Luo, Q. Y., Yang, D. J., Cai, Y. C., Huang, H. Q., & Sun, J. (2020). A novel Bcl-2 inhibitor, BM-1197, induces apoptosis in malignant lymphoma cells through the endogenous apoptotic pathway. *BMC Cancer*, 20(1), 1-12. doi:10.1186/s12885-019-6169-0
- Suraweera, C. D., Hinds, M. G., & Kvensakul, M. (2021). Structural investigation of orf virus bcl-2 homolog orfv125 interactions with bh3-motifs from bh3-only proteins puma and hrk. *Viruses*, 13(7), 1374. doi:10.3390/v13071374
- Tilokani, L., Nagashima, S., Paupe, V., & Prudent, J. (2018). Mitochondrial dynamics: overview of molecular mechanisms. *Essays in Biochemistry*, 62(3), 341-360. doi:10.1042/EBC20170104
- Tsujimoto, Y., Cossman, J., Jaffe, E., & Croce, C. M. (1985). Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science*, 228(4706), 1440-1443. doi:10.1126/science.3874430
- Wu, W., Yang, B., Qiao, Y., Zhou, Q., He, H., & He, M. (2020). Kaempferol protects mitochondria and alleviates damages against endotheliotoxicity induced by doxorubicin. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 126, 110040. doi:10.1016/j.biopha.2020.110040
- Westphal, D., Dewson, G., Czabotar, P. E., & Kluck, R. M. (2011). Molecular biology of Bax and Bak activation and action. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1813(4), 521-531. doi:10.1016/j.bbamcr.2010.12.019
- Westphal, S., & Kalthoff, H. (2003). Apoptosis: targets in pancreatic cancer. *Molecular Cancer*, 2(1), 1-14. doi:10.1186/1476-4598-2-6
- Xia, M., Zhang, Y., Jin, K., Lu, Z., Zeng, Z., & Xiong, W. (2019). Communication between mitochondria and other organelles: a brand-new perspective on mitochondria in cancer. *Cell & Bioscience*, 9(1), 1-19. doi:10.1186/s13578-019-0289-8
- Xu, A. G., Li, S. G., Liu, J. H., & Gan, A. H. (2001). Function of apoptosis and expression of the proteins Bcl-2, p53 and C-myc in the development of gastric cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 7(3), 403. doi:10.3748/wjg.v7.i3.403
- Yamaguchi, R., Lartigue, L., & Perkins, G. (2019). Targeting Mcl-1 and other Bcl-2 family member proteins in cancer therapy. *Pharmacology & Therapeutics*, 195, 13-20. doi:10.1016/j.pharmthera.2018.10.009
- Yin, X. M. (2000). Bid, a critical mediator for apoptosis induced by the activation of Fas/TNF-R1 death receptors in hepatocytes. *Journal of Molecular Medicine*, 78(4), 203-211. doi:10.1007/s001090000099
- Youle, R. J., & Strasser, A. (2008). The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(1), 47-59. doi:10.1038/nrm2308
- Zhang, H., Holzgreve, W., & De Geyter, C. (2000). Evolutionarily conserved Bok proteins in the Bcl-2 family. *FEBS Letters*, 480(2-3), 311-313. doi:10.1016/S0014-5793(00)01921-9

- Zhang, Z., Guo, M., Liu, Y., Liu, P., Cao, X., Xu, Y., & Zhu, X. (2020). RNPS1 inhibition aggravates ischemic brain injury and promotes neuronal death. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 523(1), 39-45. doi:10.1016/j.bbrc.2019.11.185
- Zheng, C., Liu, T., Liu, H., & Wang, J. (2020). Role of BCL-2 family proteins in apoptosis and its regulation by nutrients. *Current Protein and Peptide Science*, 21(8), 799-806. doi:10.2174/1389203721666191227122252
- Zhou, X., Ouyang, S., Li, J., Huang, X., Ai, X., Zeng, Y., ... & Cai, M. (2019). The novel non-immunological role and underlying mechanisms of B7-H3 in tumorigenesis. *Journal of Cellular Physiology*, 234(12), 21785-21795. doi:10.1002/jcp.28936
- Zhu, P. J., Yu, Z. Z., You, Q. D., & Jiang, Z. Y. (2020). Myeloid cell leukemin-1 inhibitors: A growing arsenal for cancer therapy. *Drug Discovery Today*, 25(10), 1873-1882. doi:10.1016/j.drudis.2020.07.021