



Yeni Bir Hücre Ölüm Şekli Olarak Ferroptozis

Ferroptosis as A New Cell Death

Alper Çelenk¹

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

ABSTRACT

Ferroptosis is a newly discovered cell death form originates from iron-dependent lipid peroxide accumulation, which differs from traditional apoptosis and necrosis. This is characterized by cytological changes including cell death, shrinkage of cell volume and increased mitochondrial membrane density. Morphologically, mitochondrial membrane condensation, impairment or destruction of the mitochondria crista, and mitochondrial membrane rupture, and smaller mitochondria than normal mitochondria can be seen. Ferroptosis can be induced by class of two small molecule substances known as class 1 and class 2 ferroptosis inducers. In addition to these substances, it can also be induced by drugs such as Sorafenib and artemisine derivative. In cancer cells and some normal cells, such as renal tubule cells, it can be triggered by these drugs and class 1 and 2 ferroptosis inducers. Activation of mitochondrial voltage-dependent anion channels and mitogen-activated protein kinases, increased endoplasmic reticulum stress, and inhibition of the cystine-glutamate delivery system have been implicated in the induction of ferroptosis. This process is caused by the accumulation of lipid peroxidation products and reactive oxygen species (ROS) derived from iron metabolism. Ferroptosis may be inhibited by iron chelators (eg, Deferoxamine) and lipid peroxidation inhibitors (eg, Ferrostatin). Ferroptosis plays an undeniable role in the proliferation of some tumor cells such as lymphocytoma, pancreatic ductal cell cancer, renal cell carcinoma (RCC) and hepatocellular carcinoma (HCC).

Keywords: Cell death, ferroptoz, lipid peroxidation, reactive oxygen species, iron chelators.

ÖZET

Ferroptosis, geleneksel apoptoz ve nekrozdan farklılık gösteren, demir bağımlı lipid peroksit birikiminden kaynaklanan ve yeni keşfedilen bir hücre ölüm şeklidir. Bu hücre ölümü, hücre hacminin küçülmesi ve artan mitokondriyal membran yoğunluğu dahil olmak üzere sitolojik değişiklikler ile karakterize edilmektedir. Morfolojik olarak, mitokondriyal membran yoğunlaşması ve ruptürü, mitokondriyon kristallarının küçülmesi veya yok olması ile mitokondri normalden daha küçük görülebilir. Ferroptosis, sınıf 1 ve sınıf 2 ferroptosis indükleyiciler olarak bilinen iki küçük molekül sınıfı ile indüklenebilir. Bu moleküllere ek olarak sorafenib ve artemisin türevi ilaçlar tarafından da uyarılabilmektedir. Kanser hücrelerinde ve böbrek tübül hücreleri gibi bazı normal hücrelerde, bu ilaçlar ve sınıf 1 ve 2 ferroptosis indükleyiciler ile ferroptosis tetiklenebilmektedir. Mitokondriyal voltaj bağımlı anyon kanallarının ve mitojen ile aktive olan protein kinazların aktivasyonu, endoplazmik retikulum stresinin artması ve sistin-glutamat taşıma sisteminin inhibisyonu da ferroptosisin indüklenmesinde rol oynamaktadır. Bu durum, demir metabolizmasından türetilen lipid peroksidasyon ürünlerinin ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikmesi ile oluşmaktadır. Ferroptosis, demir şelatörler (örn., Deferoksamin) ve lipid peroksidasyon inhibitörleri (örn., Ferrostatin) tarafından inhibe edilebilir. Ferroptosis, lenfositoma, pankreas duktal hücre kanseri, renal hücreli karsinoma (RCC) ve hepatosellüler karsinoma (HCC) gibi bazı tümör hücrelerinin proliferasyonunda etkin bir rol oynamaktadır.

Anahtar kelimeler: Hücre ölümü, ferroptosis, lipid peroksidasyonu, reaktif oksijen türleri, demir şelatörler

Giriş

Dünyanın kabağundaki en yaygın dördüncü element olan demir (Fe), insan vücudunda çok önemli rol oynamaktadır¹. Oksijen transportunda, DNA biyosentezinde yer almasının yanı sıra, ATP sentezinde trikarboksilik asit (TCA) döngüsü ve elektron transport zincirindeki çeşitli proteinlerin yardımcı faktörü olarak hücre sağkalımı için de gereklidir². Ek olarak, demir, tümör oluşumu ve ilerlemesi ile yakından ilişkili bulunmuştur ve demir metabolizmasındaki bozuklukların tümör büyümesini kolaylaştırabildiği rapor edilmiştir^{2,3}. Özellikle divalent demir varlığının, insanlarda doymuş yağ asitlerinin lipid peroksidasyonunu büyük ölçüde hızlandırdığı bilinmektedir⁴. Mitokondriyondaki oksidatif fosforilasyon sırasında, hücreler ATP ile birlikte reaktif oksijen türleri (ROS) üretir. Hücrenin anti-oksidasyon kapasitesini aşan ROS



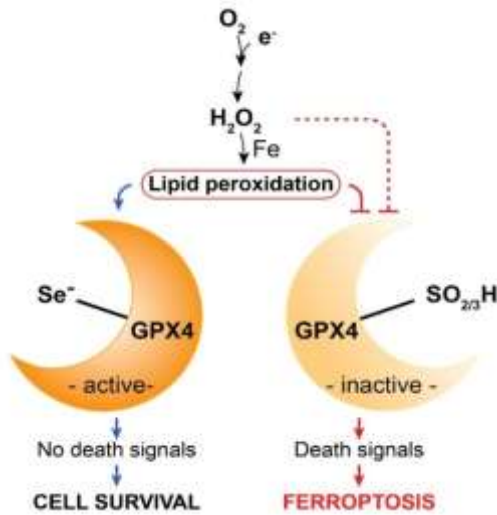
seviyeleri, proteinlere, nükleik asitlere ve lipidler gibi büyük moleküllere doğrudan veya dolaylı olarak zarar veren, hücre hasarına veya ölümüne yol açan oksidatif stres cevabına yol açabilir⁵. Bu yeni keşfedilen hücre ölüm formu ferroptozis olarak adlandırılmaktadır. Ferroptozis, geleneksel anlamda apoptoz ve nekrozdan farklıdır ve demir bağımlı lipid peroksidin birikmesinden kaynaklanmaktadır⁶.

Stockwell ve ark., çeşitli kimyasal bileşiklerin tümör hücreleri üzerindeki öldürücü etkisini araştırmak amacıyla 2003 yılında yayınladıkları bir çalışmada, RAS-mutasyona uğramış tümör hücrelerinin geleneksel apoptozdan farklı bir şekilde ölmelerine neden olan yeni bir kimyasal bileşik, erastini tanımlamışlardır⁷. Aynı araştırmacılar 2008'de, erastin ile aynı etkiye sahip iki yeni bileşik olan RSL3 ve RSL5'i keşfetmişlerdir. Bunlara ek olarak, hücre ölümünün, bir demir şelatör, desferrioksamin B-metan sülfonat (DFOM) ve bir antioksidan olan E vitamini tarafından inhibe edilebildiğini ve bu durumun hücre içi demir ve ROS seviyesi ile ilişkili olduğunu doğrulamışlardır⁸. Stockwell ve ark. demir-bağımlı lipid peroksidlerin birikmesinden kaynaklanan bu tip hücre ölümünü tanımlamak için "ferroptozis" terimini ilk kez 2012 yılında kullanmışlardır⁶. Daha sonra, sorafenib⁹, artemisinin^{10,11} ve siklik peroksit 1, 2-dioksolan (FINO2)¹² gibi diğer kimyasal bileşiklerin, ferroptozisi indükleyebildikleri bildirilmiştir. Ayrıca, ferroptoziste anahtar moleküller olan XC ve GPx4 sisteminin uyarılmasının altında yatan mekanizmalar kısmen ortaya çıkarılmıştır^{13,14}. Son zamanlarda Xie ve ark. ferroptozis indükleyicileri, inhibitörleri ve düzenleyici moleküllerin ayrıntılı bir özeti yayınlamışlardır¹⁵. Bununla birlikte, ferroptoziste demirin rolü, ROS ile uyarılmasının altında yatan moleküler mekanizmalar ve insan hastalıklarında ferroptozisin rolleri de dahil olmak üzere bir takım sorular cevapsız kalmaktadır. Bu derlemenin yazılmasındaki amaç, ferroptozisin moleküler mekanizmasının ve insan hastalıklarındaki rolünün daha iyi anlaşılmasını sağlamaktır.

Ferroptozisin apoptoz ve nekrozdan farkları

Hücre ölümü, ekzojen veya endojen kaynaklı sitotoksikite sonucu meydana gelir. Hücresel morfolojiye dayanarak orijinal olarak tanımlanmış ve farklılaşmış olan çeşitli hücre ölüm formları vardır. 1972'de Kerr ve ark. 'Apoptoz' olarak tanımlanan, bir tür hepatotrofi ile ilişkili 'otomatik olarak programlanmış' hücre ölümünü tanımlamıştır¹⁶. Bu durum, kromozom büzülmesi, kromatin yoğunlaşması ve periferalizasyon gibi tipik morfolojik değişiklikler ve yuvarlak veya oval sitoplazmik fragman oluşumu ile karakterizedir^{6,16}. Daha sonra, Schweichel ve Merker, öldürücü embriyo toksisiteleri olan ve olmayan sıçanların gelişimleri sırasında embriyonik hücrelerin ölümünü elektron mikroskopunda gözlemlemiş ve bu programlanmış hücre ölümünü (PCD) üç tipe ayırmışlardır¹⁷. Clarke, hücre ölümünün pasif bir şekli olan tip III PCD nekrozu tanımlamıştır¹⁸. Daha sonra, piropnoz, nekroptoz, parthanatoz, otofaji, onkoz ve ferroptoz da dahil olmak üzere çok sayıda hücre ölüm türü keşfedilmiştir. Ferroptozis, hücre morfolojisi, biyokimyası ve genetiği gibi çeşitli açılardan apoptoz, nekroz ve otofaji gibi diğer hücre ölüm tiplerinden oldukça farklıdır^{6,8}. Ferroptozis, apoptoz sırasında meydana gelen kromatin kondensasyonuna, nekroz sırasında ortaya çıkan plazma membran bütünlüğünün kaybına veya otofajiye bağlı olarak meydana gelen çift membranlı otofajik vakuol oluşumuna benzer morfolojik değişimlere yol açmaz. Bunun yerine, öncelikle mitokondriyonda büzülme ve mitokondriyal membran yoğunluğunda artışla kendini gösterir⁶. Ferroptozis, erastin, SAS ve RSL3 gibi çeşitli küçük moleküller tarafından indüklenebilir. Bununla birlikte, apoptozu ve nekrozu indükleyen etkenler (N-benzyloxycarbonyl-Val-Ala-Asp-fluoromethylketone (Z-VAD-FMK), Boc-Asp (OMe)-fluoromethylketone (Boc-D-FMK), wortmannin and necrostatin-1), ferroptozisi indükleyemezler. Bu nedenle ferroptozisin altında yatan mekanizmanın apoptoz ve nekrozdan farklı olduğu düşünülmektedir⁶. Ek olarak, hücre ölümüne yol açan diğer etkenlerle karşılaştırıldığında, ferroptozis indükleyici olan küçük moleküller, hücre tiplerine karşı belirgin olarak seçicidirler. Her hücre tipinde hücre ölümüne sebep olmamaktadırlar¹⁹. Ayrıca, ferroptozis indükleyicileri, nekroptoz ve piropnoz gibi formların indükleyicilerinden farklıdır²⁰. Altı mitokondriyal gen, RPL8, IREB2, ATP5G3, CS, TTC35 ve ACSF2, ferroptozisin genetik regülasyonunda rol oynar. Araştırmalar, bu altı genin, ferroptozis ile yakından ilişkili olduğunu, ancak apoptoz, nekroz ya da otofaji gibi diğer hücre ölüm tipleri ile ilgili olmadığını doğrulamıştır⁶. Bu da, ferroptozun genetik düzenleyici mekanizmasının apoptoz ve nekrozdan tamamen farklı olduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte, yakın zamanda yapılan bir çalışmada, apoptoz ve nekrozdan farklı hücre ölüm tipleri olan ferroptoz ve otofajinin, bazı yaygın mekanizmaları paylaştığı keşfedilmiştir. Bu durum, otofaji inhibitörlerinin ve lizozomal aktivasyonun, sitoplazmik, lipid peroksidlerin oluşumunu azaltarak ferroptozisi baskılayabileceğini gösteren bir bulgu ile ortaya konulmuştur.

ferroptozise neden olur. GPx ailesi, GPx1-8 dahil olmak üzere çeşitli üyelerden oluşur³⁵ ve GPx4, ferroptoziste diğerlerinden daha önemli bir rol oynar¹³. RSL3, GPx4'e doğrudan bağlanabilen ve aktivitesini engelleyebilen ve lipid peroksidlerin hücre içi birikmesine ve ardından ferroptozise yol açan bir ferroptozis indükleyicisidir^{8,13}. Erastin ve RSL3'e ek olarak, çok sayıda araştırmada ferroptozis indükleyicisi keşfedilmiştir^{36,37}. Bu indükleyicilerin sekizi (DPI 7, DPI 10, DPI 12, DPI 13, DPI 17, DPI 18, DPI 19 ve RSL3) erastine benzer şekilde GPx4 aktivitesini doğrudan baskılayarak, DPI 2 GPx4'ü etkilemez¹³. Ek olarak, GPx4 HT-1080 susturulmuş hücrelerde hücre ölümüne ve hücrelerde lipid peroksit birikmesine neden olabilir. RSL3 ile uyarılan ferroptozise benzer şekilde, bu tür hücre ölümü DFOM (bir demir şelatörü), U0126 (bir MEK inhibitörü) ve E vitamini (bir antioksidan) ile engellenebilir, bu da GPx4 aktivitesinin engellenmesinin ferroptozisin başlıca bir nedeni olduğunu göstermektedir¹³. Ayrıca, GPx4'ün, erastin ve RSL3 dahil olmak üzere çeşitli ferroptozis indükleyicileri tarafından tetiklenen ferroptoziste anahtar bir hedef olduğuna inanılmaktadır¹³.



Şekil 2. GPx4'ün aktif hali ve inhibisyonu sonucu oluşan durumlar³³

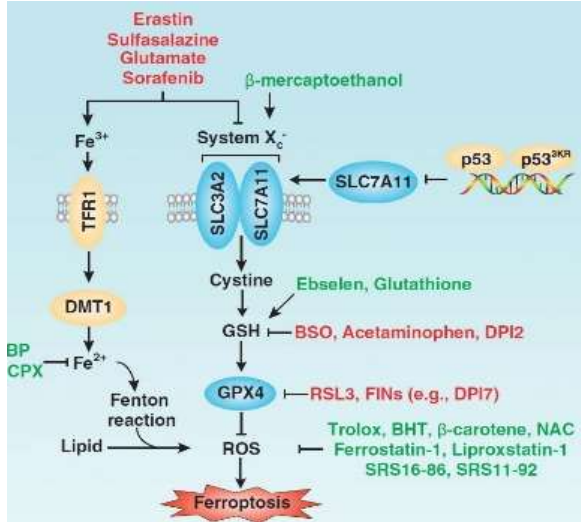
Ferroptozis sinyal yolları

Demir metabolizması ve lipid peroksidasyonu sinyalleri, ferroptozisin merkezi araçları olarak giderek daha fazla kabul görmektedir²⁷. Ayrıca, mitojen ile aktive olan protein kinaz (MAPK) yolunun aktivasyonu, ferroptotik kanser hücresi ölümünü uyarılmaktadır.

Demir'in ferroptozise etkisi

Aşırı demir seviyeleri, ROS tarafından Fenton reaksiyonu üreterek ferroptozise katkıda bulunur¹⁵(Şekil 3). Dolaşımdaki demir, transferrine bağlanarak ferrik demir (Fe+3) şeklinde bulunur. Fe+3, membran proteini transferrin reseptörü 1 (TFR1) yoluyla hücrelere aktarılır ve daha sonra endozomlara yerleşir. Endozomda, Fe+3, STEAP3'ün ferrireduktaz aktivitesi ile Fe+2 'e indirgenir. Son olarak, iki değerlikli metal taşıyıcı (DMT1, ayrıca SLC11A2 olarak adlandırılır), endozomdan Fe+2 salınımını ve sitoplazmada kararsız bir demir havuzu oluşumuna neden olur. Aşırı demir, ferritin hafif zincir (FTL) ve ferritin ağır zincir 1 (FTH1) içeren bir demir depolama protein kompleksi olan ferritin içinde depolanır. Demir'in dışarı verilmesine, Fe+2 ile Fe+3'ü oksitleyebilen membran proteini, ferroportin (SLC11A3 olarak da adlandırılan bir demir akış pompası) aracılık eder. Yapılan bir çalışmada Ras mutasyonu olan ferroptozise duyarlı hücreler ile ferroptozise dirençli hücreler karşılaştırılmış ve TFR1 ekspresyonunun artmış, ferritin (FTL ve FTH1) ekspresyonunun ise azaldığı görülmüştür⁸. Bu durum demir alımının artmasının ve düşük demir depolanmasının ferroptozis sırasında aşırı demir yüklenmesine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Yapılan çalışmalarda demir şelatörleri (örneğin, deferoxamin, desferrioksamin mesilat, siklopiroks olamin) ile aşırı demir yükünün azalması, erastin aracılı ferroptozisi inhibe ederken, ekzojen demir kaynaklarının (örn. ferrik amonyum sitrat, ferrik sitrat ve demir kloridheksahidrat), erastine bağlı hücre ölümünü arttırdığı

belirlenmiştir^{6,8}. Demir bağımlı ferroptozis için daha doğrudan kanıtlar, demir metabolizmasının ana transkripsiyon faktörü olan IREB2'nin susturulması ile belirlenmiştir. IREB2 ekspresyonunun RNAi ile baskılanması, demir metabolizması ile ilişkili gen ekspresyonunu (örneğin F-box ve lösin açısından zengin tekrar protein 5, demir-sülfür küme derleme enzimi, FTH1 ve FTL) önemli ölçüde arttırmakta ve erastin kaynaklı ferroptozisi sınırlandırmaktadır^{6,8}. Bu nedenle, ferroptozisin uyarılması için demirin alınması ve kullanılmasına dahil olan hüresel sistemler gereklidir.

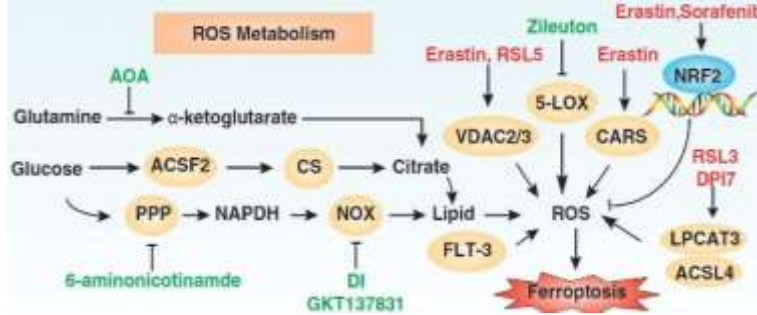


Şekil 3. Ferroptozin moleküler mekanizmaları ve sinyal yolları¹⁵

ROS (reaktif oksijen türlerinin) ferroptozise etkisi

Ferroptozis indüksiyonunun ROS ile ilişkisinde birden fazla kaynak bulunabilmektedir¹⁵(Şekil 4). Demir aracılı ROS üretiminde Fenton reaksiyonuna ek olarak, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) bağımlı lipid peroksidasyonu ve Glutasyon (GSH) tükenmesi de ferroptozisin uyarılması için önemlidir^{6,13}. GPX4'ün GSH tükenmesi ile inaktivasyonu ve lipid peroksidasyonu kaynaklı ROS üretiminin artışı ile ferroptozis tetiklenmektedir¹³. Mitokondriyal yağ asidi metabolizması, ferroptozis için gerekli olan spesifik lipid öncüllerini sağlamaktadır. Özellikle, ferroptoziste mitokondriyal yağ asidi metabolizması için ACSF2 ve CS gereklidir. ACSF2 ve CS'nin susturulması, erastin kaynaklı ferroptozisi inhibe etmektedir⁶. Glikoz metabolizmasına ek olarak, lipid üretimi, glutaminin a-ketoglutarattan (Şekil 4) dönüşümünden kaynaklanabilmektedir¹⁵. Bu işlem transaminaz inhibitörü olan aminooksiasetik asit ile bloke edilebilir. ROS, lipid membranların çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar) ile reaksiyona girebilir ve lipid peroksidasyonunu tetikleyebilir³⁹. GPX4 inaktivasyonunu takiben araşidonik asit (AA) ve diğer PUFA'ların tükenmesi, ferroptozisin ilerlemesi için gereklidir. ACSL4 asitleri AA ve LPCAT3, asile edilmiş AA'yı membran fosfolipidlerine katalize etmektedir^{39,40}. Böylece, ACSL4 ve LPCAT3'ün bastırılması, membrandaki bir dizi hassas yağ asidinin oksitlenmesini azaltabilir. Aksine, GPX4 eksikliği olan hücrelerde ferroptozise katkıda bulunan AA ile zenginleştirilmiş oksitlenmiş membranlar sergiler. GPX4 susturulmuş hücre ortamında, AA mediyatörlerinin salınması sırasında spesifik olarak ferroptozis uyarıcıları (örn. RSL3 ve erastin) takip edilip gözlenmiştir ancak apoptoz uyarıcıları (örneğin, TNFα ve staurosporin) görülmemiştir³⁹. 5-, 12- ve 15-hidroperoksikotetraenoik asit (HPETE) ile tedavi, ferroptotik süreci hızlandırmaktadır³⁹. Mitokondriyon için bir lipid taşıma proteini olan sterol taşıyıcı protein 2'nin farmakolojik inhibisyonu, geçici olarak GPX4 negatif hücrelerinin ferroptozisten kurtarılmasını sağlar. GPX4 negatif hücrelerinden lipid sinyallerinin başlatılması, mitokondriyal matriksin dışında meydana gelir³⁹. Bu nedenle, ferroptozis oksitlenmiş lipid mediyatör salınımı ile ilişkili olan ekstra-mitokondriyal lipid peroksidasyonu tarafından tetiklenir. Erastine dirençli DU-145 kanser hücrelerini kullanan başka bir çalışma AKR1C1-3 dahil AKR1C aile genlerinin upregülasyonunun ferroptozis direnci ile ilişkili olduğunu göstermektedir. AKR1C1-3, 4-hidroksinonenalin'in çeşitli PUFA'lara oksidasyonunu katalize eder. Bu erastin-dirençli DU-145 hücreleri ayrıca sulfasalazin, sorafenib ve RSL3'e karşı direnç sergiler. Bu durum rezistansın artmış sistem Xc-aktivitesine bağlı olmadığını göstermektedir. Asetil-CoA karboksilaz alfa (ACC1'i kodlayan gen), bazı

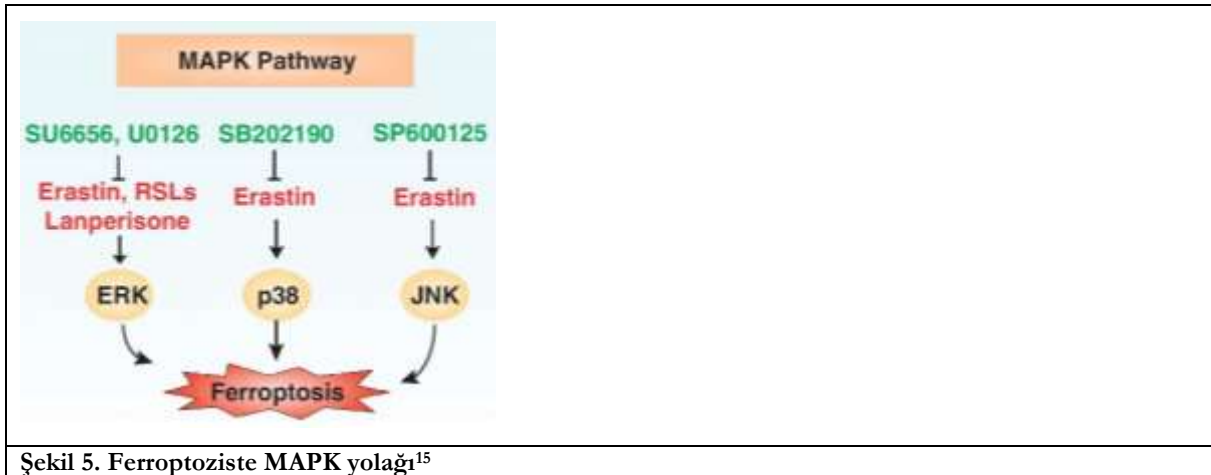
hücrelerde ferroptozis için gerekli değildir³⁸. ACC1'in RNAi ile susturulması veya ACC1'in 5-tetradesiloksi-2-furonik asit ile inhibisyonu RSL3 ve erastin kaynaklı ferroptozisi etkilememiştir. AA ve linolenik asit gibi PUFA'lar lipoksijenazların substratlarıdır (LOX). LOX, AA durumunda, PUFA'ları HPETE dahil olmak üzere hidroperoksil ara maddelerine oksitler. Lipaz peroksidasyonu arttığında PUFA'lar azalır. AA substrat olduğunda, farklı LOX izozimleri karbonlar 5, 12 veya 15'de bir hidroperoksil grubu ekleyebilir ve bu nedenle 5-, 12 veya 15-LOX olarak adlandırılır. Bununla birlikte, 12/15-LOX, ferroptozis için gerekli görünmemektedir³⁹.



Şekil 4. Ferroptoziste Ros metabolizması¹⁵

MAPK sinyal yolağı

MAPK'ların memeli ailesi çoğunlukla ERK, p38 ve c-Jun NH2-terminal kinazı (JNK) içerir. Ras / Raf / MEK / ERK yolunu bloke etmek Ras mutasyona uğramış kanser hücrelerinde erastin kaynaklı ferroptozisi inhibe etmektedir⁴¹. Bununla birlikte, JNK ve p38, lösemi hücrelerinde erastin kaynaklı hücre ölümü için önemli görünmektedir. SP600125 (bir JNK fosforilasyon inhibitörü) ve SB202190 (p38 aktivasyonunun bir inhibitörü), HL-60 hücrelerinde erastin tarafından indüklenen sitotoksiteyi azaltmaktadır⁴². Bu bulgular, belirli bir MAPK modülü ile ilişkili ferroptotik yanıtların hücre tipine özgü olduğunu göstermektedir¹⁵ (şekil 5).



Şekil 5. Ferroptoziste MAPK yolağı¹⁵

Sülfür transfer yolağı

Sülfür içeren proteinler memeli hücrelerinde çok önemlidir. Metionin, insan bedenleri için gerekli olan ve sadece besinlerden elde edilebilen kükürt içeren bir amino asittir. Vücuttaki sülfür transfer yolu yoluyla, metionin Sadenosyl homosisteine ve sisteine dönüştürülebilir. Sistein yetmezliği koşulları altında, homosistein, sistein havuzunu kükürt aktarım yolu boyunca tamamlayacak şekilde sistatinyonine (sistein öncülü) dönüştürülür⁴³. Çeşitli çalışmalar, memelilerde sülfür içeren amino asitlerin %40'ından fazlasında bulunan sistein'in besinlerden geldiğini göstermiştir^{44,45}. Vücuttaki sistein daha çok GSH, anti-oksidatif peptidler, tioredoksin (Trx), vb. sentezlemek için kullanılmaktadır. Bunlardan GSH, hücrel oksidasyon redüksiyon dengesini korumak için önemli bir faktördür. GSH, hücrelerdeki lipid peroksidlerin ve organik

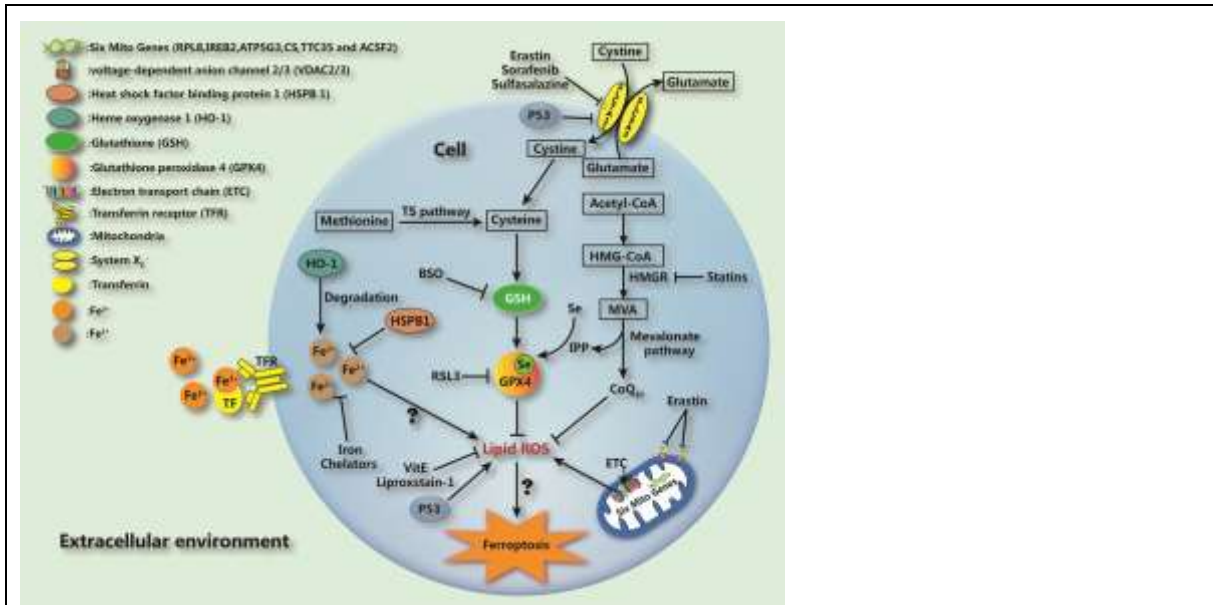
hidroperoksit ürünlerinin GPx4 yoluyla indirgenmesine aracılık eder. Böylece, GPx4'ün ferroptoziste merkezi bir düzenleyici rol oynamasını sağlar¹³. Oksidatif stres koşullarında sistationin-b-sentetaz aktivasyonu, metionin'in sistein'e dönüşümünü ve sülfür aktarım yolları üzerinden GSH sentezini arttırmaktadır. Böylece hücreleri oksidatif stres yanıtının neden olduğu yaralanmalardan korur. Son zamanlardaki araştırmalar, kükürt aktarım yollarının gen ekspresyonunun upregüle edilmesinin, ve sisteinil-tRNA sentetaz (CARS) kaybının erastin ile uyarılmış ferroptozisi inhibe edebildiğini ancak RSL3 veya BSO ile indüklenmiş ferroptozisi engellemediğini ortaya koymuştur⁴⁶. Bu, sülfür transfer yollarının, hücre ferroptosisinde negatif düzenleyici rol oynadığını göstermektedir.

HSF1-HSPB1 yolağı

Isı şoku proteinleri (HSP'ler), hücre iskeletin yapısını düzenleyen ve kontrol eden moleküller olarak bulunmuştur⁴⁷ ve anormal şekilde katlanmış proteinleri stabilize etmektedir⁴⁸. Altı HSP ailesi vardır: HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 ve küçük HSP'ler. Isı şoku faktörleri (HSF'ler) HSP sentezini düzenleyen transkripsiyon faktörleridir⁴⁹. HSPB1 ayrıca fare HSP25 veya insan HSP27 olarak bilinir. Son zamanlardaki araştırmalar, erastinin HSPB1 mRNA ve proteinin ekspresyonunu artırabildiğini ve HSF1-HSPB1 yolunun insan servikal kanser hücreleri, osteosarkom hücreleri ve prostat kanseri hücrelerinde erastin kaynaklı ferroptozisi negatif bir şekilde düzenleyebildiğini bulmuştur⁵⁰. HSF1 ve HSPB1 inhibisyonu, hücrelerdeki demir ve ROS konsantrasyonlarını arttırmakta, sonuçta tümör hücrelerinin büyümesini bastırmaktadır. Bu durum HSPB1 fosforilasyonunun hücre ferroptozisini önleyebileceğini göstermektedir çünkü fosforile HSPB1, hücreler tarafından demir ve lipid ROS'un alımını inhibe etmektedir⁵⁰.

Ferroptozisi düzenleyen diğer yollar

Ferroptosis birçok yolak tarafından düzenlenmektedir⁵¹ (şekil 6). Örneğin, glutamat ve transferrin, hücrelerde ferroptozisi glutamin yolu ve hücre yüzeyindeki transferrin reseptörleri aracılığıyla düzenleyebilmektedir^{52,53}. 2016 yılında Sun ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, p62-Keap1-NRF2 yolunun, NRF2'nin ekspresyonunu düzenleyerek karaciğer kanser hücrelerinde ferroptozise duyarlılığı düzenlediğini bulmuşlardır⁵⁴. Aynı yıl içerisinde yakın tarihli bir çalışmada, Hasegawa ve arkadaşları MUC1-C / xCT yolunun negatif düzenleyici rol oynayabildiğini ve üçlü negatif meme kanseri (TNBC) hücrelerinin erastin kaynaklı ferroptozisini inhibe edebileceğini bulmuşlardır⁵⁵. Hem oksijenaz-1 (HO-1) önemli bir hücre içi demir kaynağıdır. Kwon ve ark. HO-1'in lipid peroksidasyon reaksiyonunu indüklemeye ve hücre ferroptozise neden olma yeteneğini kanıtladığı gibi erastin kaynaklı ferroptotik hücre ölümünde de önemli rolü olduğunu 2015 yılında yaptıkları çalışmada belirlemişlerdir⁵⁶(Şek. 1).



Şekil 6. Ferroptozisi düzenleyen mekanizmalar⁵¹

Ferroptoz İndükleyiciler

Erastin

Erastin tarafından tetiklenen hücre ölümü olan ferroptozis, antioksidanlar (örn., A-tokoferol, bütillenmiş hidroksitolüen ve β -karoten) ve demir şelatörleri (örn., Deferoksamin) tarafından önemli ölçüde inhibe edilebilmektedir. Bu durum erastin kaynaklı ferroptozis için ROS ve demir bağımlı sinyallerin gerekli olduğunu göstermektedir^{6,10}(Şekil 3)¹⁵. Demir veya mitokondriyal yağ asidi metabolizmasını düzenleyen altı gen, özellikle erastin kaynaklı ferroptozis için gereklidir⁶. Bu genler arasında ribozomal protein L8, demir cevabı olan element bağlayıcı protein 2 (IREB2), ATP sentaz F0 kompleks alt birimi C3, sitrat sentaz, tetratrikopeptid tekrar alanı 35 ve andacyl-CoA sentetaz aile üyesi 2 (ACSF2) bulunmaktadır⁶. RAF / MEK/ERK sinyalleşmesinin aktivasyonu, onkojenik Ras taşıyan tümör hücrelerinde erastin kaynaklı ferroptozis için önemli görünmektedir⁴¹. İn vivo olarak, piperazinin, kanser gelişimini inhibe etmek için erastinden daha iyi stabiliteye ve suda çözünürlüğe sahip olduğu gösterilmiştir¹³. Erastinin direkt moleküler hedeflerinden biri mitokondriyal voltaj bağımlı anyon kanallarıdır (VDAC) ⁴¹ (Şekil 4)¹⁵. Erastin, BjeLR hücrelerinde VDAC2 / 3'e doğrudan bağlanabilir. VDAC2 ve VDAC3'ün susturulması ancak VDAC1 susturulmaması erastin direncine yol açar⁴¹. Ayrıca, erastin, ER stres cevabının aktivasyonu ile sistin / glutamat antiporter sistem Xc - aktivitesini (Şekil 1), doğrudan inhibe ederek glutatyon (GSH) seviyesini düşürme özelliğine sahiptir. Bu süreç ferroptozis sırasında ROS birikimini hızlandırabilir⁶.

RSL3 ve RSL5

Demir, ROS ve MEK, onkojenik Ras taşıyan tümör hücrelerindeki RSL3 ve RSL5 kaynaklı ferroptozis için gereklidir⁸. RSL5 için VDAC2 / 3 gerekli iken RSL3 kaynaklı ferroptozis için gerekli değildir⁸. RSL3, GPX4'ün doğrudan inhibitörüdür, fakat sistem Xc - 'nin değildir¹³. GPX4'e bağlandıktan sonra RSL3, lipidlerden ROS üretimini arttırmak için GPX4'ü etkisiz hale getirir¹³. Böylece en az iki tip RSL vardır bunlar; Erastin ve RSL5 gibi tip I RSL'ler, ferroptozisi indüklemek için upregülatörleri (örn., VDAC ve sistem Xc-) hedefleyebilir. RSL3 gibi Tip II RSL'ler, downregülatör düzenleyicilerini (örn., GPX4) inhibe ederek ferroptozisi tetikleyebilmektedir. Yapılan bir çalışmada protein-sentez inhibitörü sikloheksimid'in RSL5 ile indüklenen ferroptozisi inhibe edemediği ancak RSL5'i önemli ölçüde inhibe ettiği belirlenmiştir. Bu durum Tip I RSL'nin neden olduğu ferroptozis için protein sentezinin gerekli olduğunu göstermiştir⁸.

Butiyoninsulfoksimin

Butiyoninsulfoksimin (BSO), GSH sentezi için sınırlayıcı enzim olan γ -glutamil sistein sintetazın geri dönüşümsüz bir inhibitörüdür (Şekil 3)¹⁵. BSO, azaltılmış GPX aktivitesi ve artan ROS seviyeleri ile GSH sentezini inhibe etmekte ve Ras-mutasyona uğramış hücrelerde ferroptozise yol açmaktadır¹³.

Asetaminofen

Asetaminofen, GSH tükenmesine neden olan ve karaciğer hasarını artıran N-asetil-p-benzokinon imin olarak tanımlanmıştır (Şekil 3)¹⁵. Nekroz ve apoptoza ek olarak, asetaminofen, fare hepatositlerinde ferroptozise neden olurken, HepG2 karaciğer kanseri hücre hatlarında ferroptozise neden olmamaktadır⁵⁷. Ferrostatin-1'in asetaminofen ile indüklenen hücre ölümüne karşı koruyucu etkisi, asetaminofen veya GSH tükenmesinin azaltılmış metabolizmasından kaynaklanmamaktadır⁵⁷.

Sorafenib

Sorafenib, hepatosellüler karsinom (HCC) hücreleri gibi belirli kanser hücrelerinde ferroptozise neden olur^{9,58}. Sorafenib ile uyarılan ferroptozis Ras, RAF, PIK3CA ve p53'ün onkojenik durumundan bağımsız olarak ortaya çıkmaktadır⁵⁸. Bununla birlikte, yapılan bir çalışmada Rb'nin (prototip tümör baskılayıcı gen) ve NRF2'nin ekspresyonu, HCC'de sorafenib kaynaklı ferroptozisi inhibe edebildiği belirlenmiştir^{53,58}. Bu süreç, upregüle edilen ER stres ile ilişkilidir⁶⁰. Yapılan başka bir çalışmada 87 sorafenib analogunun yapı aktivite ilişkileri analizi yapılmış ve sorafenibin kinaz olmayan bir hedef yoluyla sistem Xc - aktivitesini inhibe ettiğini görülmüştür⁶⁰.

Artesunat

Eling ve ark. (2015), artesunatın seçici olarak K-Ras-mutant pankreatik duktal adenokarsinom (PDAC) hücre dizilerinde ferroptozisi indüklediğini ancak insan pankreatik duktal epitel hücreleri veya vahşi tip K-Ras PDAC hücrelerinde ferroptozisi indüklediğini belirtmişlerdir⁶¹. Aynı araştırmacılar ferroptozisin demir şelatörü deferoksamin tarafından inhibe edildiğini ve eksojen lizozomal demir ile ise ferroptozisin arttığını görmüşlerdir⁶¹. Demir şelatörü deferoksamine ek olarak, ROS inhibitörleri (örn., Trolox ve ferrostatin-1) PDAC hücrelerinde artesunat kaynaklı ferroptozisi önemli ölçüde inhibe eder ancak bu durum nekrostatin-1 için geçerli değildir⁶¹. Başka bir çalışma ise artesunat dahil 10 artemisin türevinin, kanser hücrelerinde hücre ölümüne katkıda bulunan, demirle ilişkili çok sayıda mRNA seviyesini değiştirdiğini göstermiştir¹⁰.

Sonuç

Son yıllarda yapılan araştırmalarda, insan ve hayvan hastalıklarını anlaşılması ve tedavisi için ferroptozis ve diğer hücre ölüm tiplerinin anlaşılması ve bunların inhibisyon ve aktivasyonu ile ilgili detaylı araştırmaların yapılması önem kazanmıştır. Yapılan çalışmalarda, ferroptozisin Huntington hastalığı (HD), periventriküler lökomalazi (PVL) ve renal fonksiyonel hasar dahil üzere çeşitli insan hastalıklarıyla olan yakın ilişkilerini ortaya çıkarmıştır^{40,62}. Aynı zamanda bu çalışmalar, diffüz büyük B hücre lenfoması (DLBCL), RCC, karaciğer kanseri, servikal karsinom, osteosarkom ve prostat adenokarsinoma hücreleri gibi bir dizi tümör hücresinin ferroptozise karşı çok duyarlı olduğunu göstermiştir^{13,50}. Bu çalışmalar ışığında tümör oluşumunda, progresyonunda ve tedavisinde ferroptozisin rolleri açıklığa kavuşturulmaya çalışılmaktadır. Çeşitli çalışmalar, tümör hücrelerinin öldürülmesinde ve tümör büyümesinin bastırılmasında ferroptozisin rolünü doğrulamıştır. Yapılan çalışmalar ferroptozis indükleyicisi olan erastinin, temozolomid, sisplatin, sitarabin ve doksorubisin / Adriamycin gibi kemoterapötik ilaçlarla birlikte uygulandığında kemoterapinin etkinliğini arttırabildiğini göstermiştir^{63,64}. Aynı zamanda yapılan başka bir çalışma ise tümör ksenograft modellerinde erastin, piperazin ve RSL3'ün tümörlerin büyümesini engellediği görülmüştür^{13,50}. Ek olarak, artemisin türevlerinin, ferroptozise duyarlı hastalıkları tedavi etmek için kullanılabilirliğini düşündüren demir bağımlı hücre ölümünü, özellikle de ferroptozisi indükleyebilmektedir^{10,11}. Sonuç olarak ferroptozisin daha detaylı araştırılması, özellikle hücre ölüm kaynaklı hastalıkların anlaşılması ve tedavisine ışık tutacaktır.

Kaynaklar

1. Frey PA, Reed GH. The ubiquity of iron. *ACS Chem Biol*; 2017;14:77-81.
2. Bogdan AR, Miyazawa M, Hashimoto K, Tsuji Y. Regulators of iron homeostasis: new players in metabolism, cell death, and disease. *Trends Biochem Sci*. 2016;41:274-86.
3. Manz DH, Blanchette NL, Paul BT, Torti FM, Torti SV. Iron and cancer: recent insights. *Ann N Y Acad Sci*. 2016;1368:149-61.
4. Pratt DA, Tallman KA, Porter NA. Free radical oxidation of polyunsaturated lipids: new mechanistic insights and the development of peroxy radical clocks. *Acc Chem Res*. 2011;44:458-67.
5. Ray PD, Huang B-W, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal*. 2012;24:981-90.
6. Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*. 2012;149:1060-72.
7. Dolma S, Lessnick SL, Hahn WC, Stockwell BR. Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells. *Cancer Cell*. 2003;3:285-96.
8. Yang WS, Stockwell BR. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells. *Chem Biol*. 2008;15:234-45.
9. Louandre C, Ezzoukhry Z, Godin C, Barbare JC, Mazière JC, Chauffert B et al. Iron-dependent cell death of hepatocellular carcinoma cells exposed to sorafenib. *Int J Cancer*. 2013; 133: 1732-42.
10. Ooko E, Saeed ME, Kadioglu O, Sarvi S, Colak M, Elmasaoudi K, et al. Artemisinin derivatives induce iron-dependent cell death (ferroptosis) in tumor cells. *Phytomedicine*. 2015; 22: 1045-54.
11. Eling N, Reuter L, Hazin J, Hamacher-Brady A, Brady NR. Identification of artesunate as a specific activator of ferroptosis in pancreatic cancer cells. *Oncoscience J*. 2015;2:517-32.
12. Abrams RP, Carroll WL, Woerpel KA. Five-membered ring peroxide selectively initiates ferroptosis in cancer cells. *ACS Chem Biol*. 2016;11:1305-12.
13. Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, Shimada K, Skouta R, Viswanathan VS et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell*. 2014;156:317-31.
14. Cao JY, Dixon SJ. Mechanisms of ferroptosis. *Cell mol Life sci*. 2016;73:2195-209.

15. Xie Y, Hou W, Song X, Yu Y, Huang J, Sun X et al. Ferroptosis: process and function. *Cell Death Differ.* 2016;23:369–79.
16. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer.* 1972;26:239–57.
17. Schweichel JU, Merker HJ. The morphology of various types of cell death in prenatal tissues. *Teratology.* 1973;7:253–66.
18. Clarke PG. Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanisms. *Anat Embryol.* 1990;181:195–213.
19. Shimada K, Hayano M, Pagano NC, Stockwell BR. Cell-line selectivity improves the predictive power of pharmacogenomic analyses and helps identify NADPH as biomarker for ferroptosis sensitivity. *Cell Chem Biol.* 2016;23:225–35.
20. Dong T, Liao D, Liu X, Lei X. Using small molecules to dissect non-apoptotic programmed cell death: necroptosis, ferroptosis, and pyroptosis. *ChemBiochem.* 2015;16:2557–61.
21. Sato H, Tamba M, Ishii T, Bannai S. Cloning and expression of a plasma membrane cystine/ glutamate exchange transporter composed of two distinct proteins. *J Biol Chem.* 1999;274:11455–8.
22. Bridges RJ, Natale NR, Patel SA. System xc⁻ cystine/glutamate antiporter: an update on molecular pharmacology and roles within the CNS. *Br J Pharmacol.* 2012;165:20–34.
23. Lu B, Chen XB, Ying MD, He QJ, Cao J, Yang B. The Role of Ferroptosis in Cancer Development and Treatment Response. *Front. Pharmacol.* 2018;8:992.
24. Lo M, Ling V, Wang YZ, Gout PW. The xccystine/glutamate antiporter: a mediator of pancreatic cancer growth with a role in drug resistance. *Br J Cancer.* 2008;99:464–72.
25. Ishii T, Bannai S, Sugita Y. Mechanism of growth stimulation of L1210 cells by 2-mercaptoethanol in vitro. Role of the mixed disulfide of 2-mercaptoethanol and cysteine. *J Biol Chem.* 1981;256:12387–92.
26. Tan S, Schubert D, Maher P. Oxytosis: a novel form of programmed cell death. *Curr Top Med Chem.* 2001;1:497–506.
27. Dixon SJ, Stockwell BR. The role of iron and reactive oxygen species in cell death. *Nat Chem Biol.* 2014;10:9–17.
28. Murphy TH, Miyamoto M, Sastre A, Schnaar RL, Coyle JT. Glutamate toxicity in a neuronal cell line involves inhibition of cystine transport leading to oxidative stress. *Neuron.* 1989;2:1547–58.
29. Bannai S, Kitamura E. Transport interaction of L-cystine and L-glutamate in human diploid fibroblasts in culture. *J Biol Chem.* 1980;255:2372–6.
30. Wolpaw AJ, Shimada K, Skouta R, Welsch ME, Akavia UD, Pe'er D et al. Modulatory profiling identifies mechanisms of small molecule-induced cell death. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108:E771–80.
31. Ursini F, Maiorino M, Valente M, Ferri L, Gregolin C. Purification from pig liver of a protein which protects liposomes and biomembranes from peroxidative degradation and exhibits glutathione peroxidase activity on phosphatidylcholine hydroperoxides. *Biochim Biophys Acta.* 1982;710:197–211.
32. Thomas JP, Geiger PG, Maiorino M, Ursini F, Girotti AW. Enzymatic reduction of phospholipid and cholesterol hydroperoxides in artificial bilayers and lipoproteins. *Biochim Biophys Acta.* 1990;1045:252–60.
33. Ingold I, Berndt C, Schmitt S, Doll S, Poschmann G, Buday K et al. Selenium Utilization by GPX4 Is Required to Prevent Hydroperoxide-Induced Ferroptosis. *Cell.* 2018;172:409–422.
34. Ursini F, Maiorino M, Brigelius-Flohe R, Aumann KD, Roveri A, Schomburg D et al. Diversity of glutathione peroxidases. *Methods Enzymol.* 1995;252:38–53.
35. Brigelius-Flohe R, Maiorino M. Glutathioneperoxidases. *Biochim Biophys Acta.* 1830;2013:3289–303.
36. Weiwer M, Bittker JA, Lewis TA, Shimada K, Yang WS, MacPherson L et al. Development of small-molecule probes that selectively kill cells induced to Express mutant RAS. *Bioorg Med Chem Lett.* 2012;22:1822–6.
37. Yang WS, Shimada K, Delva D, Patel M, Ode E, Skouta R, et al. Identification of simple compounds with microtubule-binding activity that inhibit cancer cell growth with high potency. *ACS Med Chem Lett.* 2012;3:35–8.
38. Dixon SJ, Winter GE, Musavi LS, Lee ED, Snijder B, Rebsamen M et al. Human haploid cell genetics reveals roles for lipid metabolism genes in nonapoptotic cell death. *ACS Chem Biol.* 2015;10:1604-09.
39. Friedmann Angeli JP, Schneider M, Proneth B, Tyurina YY, Tyurin VA, Hammond VJ et al. Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice. *Nat Cell Biol.* 2014;16:1180–91.
40. Skouta R, Dixon SJ, Wang J, Dunn DE, Orman M, Shimada K et al. Ferrostatins inhibit oxidative lipid damage and cell death in diverse disease models. *J Am Chem Soc.* 2014;136:4551–56.
41. Yagoda N, von Rechenberg M, Zaganjor E, Bauer AJ, Yang WS, Fridman DJ et al. RAS-RAFMEK- dependent oxidative cell death involving voltage-dependent anion channels. *Nature.* 2007;447:864–68.
42. Yu Y, Xie Y, Cao L, Yang L, Yang M, Lotze MT et al. The ferroptosis inducer erastin enhances sensitivity of acute myeloid leukemia cells to chemotherapeutic agents. *Mol Cell Oncol.* 2015;2(4).
43. McBean GJ. The transsulfuration pathway: a source of cysteine for glutathione in astrocytes. *Amino Acids.* 2012;42:199–205.
44. Shoveller AK, Brunton JA, House JD, Pencharz PB, Ball RO. Dietary cysteine reduces the methionine requirement by an equal proportion in both parenterally and enterally fed piglets. *J Nutr.* 2003;133:4215–24.
45. Ball RO, Courtney-Martin G, Pencharz PB. The in vivo sparing of methionine by cysteine in sulfur amino acid requirements in animal models and adult humans. *J Nutr.* 2006;136:1682–93.
46. Hayano M, Yang WS, Corn CK, Pagano NC, Stockwell BR. Loss of cysteinyl-tRNA synthetase (CARS) induces the transsulfuration pathway and inhibits ferroptosis induced by cystine deprivation. *Cell Death Differ.* 2016;23:270–8.
47. Carver JA, Rekas A, Thorn DC, Wilson MR. Small heat-shock proteins and clusterin: intra- and extracellular molecular chaperones with a common mechanism of action and function? *IUBMB Life.* 2003;55:661–8.
48. Jakob U, Gaestel M, Engel K, Buchner J. Small heat shock proteins are molecular chaperones. *J Biol Chem.* 1993;268:1517–20.
49. Wu C. Heat shock transcription factors: structure and regulation. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 1995;11:441–69.

50. Sun X, Ou Z, Xie M, Kang R, Fan Y, Niu X et al. HSPB1 as a novel regulator of ferroptotic cancer cell death. *Oncogene*. 2015;34:5617–25.
51. Yu H, Guo P, Xie X, Wang Y, Chen G. Ferroptosis, a new form of cell death, and its relationships with tumorous diseases. *J. Cell. Mol. Med.* 2017;21:648–657
52. Gao M, Monian P, Jiang X. Metabolism and iron signaling in ferroptotic cell death. *Oncotarget*. 2015;6:35145–6.
53. Gao M, Monian P, Quadri N, Ramasamy R, Jiang X. Glutaminolysis and transferrin regulate ferroptosis. *Mol Cell*. 2015;59:298–308.
54. Sun X, Ou Z, Chen R, Niu X, Chen D, Kang R et al. Activation of the p62-Keap1-NRF2 pathway protects against ferroptosis in hepatocellular carcinoma cells. *Hepatology (Baltimore, MD)*. 2016;63:173–84.
55. Hasegawa M, Takahashi H, Rajabi H, Alam M, Suzuki Y, Yin L et al. Functional interactions of the cystine/glutamate antiporter, CD44v and MUC1-C oncoprotein in triple-negative breast cancer cells. *Oncotarget*. 2016;7:11756–69.
56. Kwon MY, Park E, Lee SJ, Chung SW. Heme oxygenase- accelerates erastin-induced ferroptotic cell death. *Oncotarget*. 2015;6:24393–403.
57. Lorincz T, Jemnitz K, Kardon T, Mandl J, Szarka A. Ferroptosis is Involved in Acetaminophen Induced Cell Death. *Pathol Oncol Res* 2015;21:1115–21.
58. Louandre C, Marcq I, Bouhlal H, Lachaier E, Godin C, Saidak Z et al. The retinoblastoma (Rb) protein regulates ferroptosis induced by sorafenib in human hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Lett* 2015;356:971–77.
59. Lachaier E, Louandre C, Godin C, Saidak Z, Baert M, Diouf M et al. Sorafenib induces ferroptosis in human cancer cell lines originating from different solid tumors. *Anticancer Res* 2014;34:6417–22.
60. Dixon SJ, Patel DN, Welsch M, Skouta R, Lee ED, Hayano M et al. Pharmacological inhibition of cystine-glutamate exchange induces endoplasmic reticulum stress and ferroptosis. *eLife* 2014;3:e02523.
61. Nils Eling, Lukas Reuter, Hazin John, Hamacher-Brady Anne, Brady NR. Identification of artesunate as a specific activator of ferroptosis in pancreatic cancer cells. *Oncoscience* 2015;2:517–32.
62. Linkermann A, Skouta R, Himmerkus N, Mulay SR, Dewitz C, Zen FD et al. Synchronized renal tubular cell death involves ferroptosis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111:16836–41.
63. Yamaguchi H, Hsu JL, Chen CT, Wang YN, Hsu MC, Chang SS et al. Caspase- independent cell death is involved in the negative effect of EGF receptor inhibitors on cisplatin in non-small cell lung cancer cells. *Clin Cancer Res*. 2013;19:845–54.
64. Chen L, Li X, Liu L, Yu B, Xue Y, Liu Y et al. Erastin sensitizes glioblastoma cells to temozolomide by restraining xCT and cystathionine-gammalyase function. *Oncol Rep*. 2015;33:1465–74.

Correspondence Address / Yazışma Adresi

Alper Çelenk
Çukurova Üniversitesi
Ceyhan Veteriner Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,
Adana, Turkey
e-mail: acelenk@cu.edu.tr

Geliş tarihi/ Received: 09.08.2021**Kabul tarihi/ Accepted:** 10.09.2021